

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. Oktober 2006 (05.10.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/103009 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

C07D 245/04 (2006.01) C07K 5/08 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01) C07K 5/10 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)

21, 82377 Penzberg (DE). FISCHER, Karin [DE/DE];
Schneebacher Weg 20, 42699 Solingen (DE).

(74) Anwälte: FINDEISEN, Marco usw.; Witte, Weller &
Partner, Postfach 10 54 62, 70047 Stuttgart (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/002564

(81) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EB, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:

21. März 2006 (21.03.2006)

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(30) Angaben zur Priorität:

10 2005 014 247.8 30. März 2005 (30.03.2005) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): AICURIS GMBH & CO. KG [DE/DE]; Aprather Weg 18a, 52117 Wuppertal (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): ENDERMANN, Rainer [DE/DE]; In Den Birken 152a, 42113 Wuppertal (DE). EHLERT, Kerstin [DE/DE]; Auf Den Pöthen 51, 42553 Velbert (DE). RADDATZ, Siegfried [DE/DE]; Jakob-Böhme-Strasse 21, 51065 Köln (DE). MICHELS, Martin [DE/US]; 400 Morgan Lane, West Haven, Connecticut 06516-4140 (US). CANCHO-GRANDE, Yolanda [ES/DE]; Christian-Hess-Str. 79, 51373 Leverkusen (DE). WEIGAND, Stefan [DE/DE]; Ahornstr.

(54) Title: ANTIBACTERIAL AMIDE MACROCYCLES VI

(54) Bezeichnung: ANTI~~B~~AKTERIELLE AMID-MAKROZYKLEN VI

(57) Abstract: The invention concerns antibacterial amide macrocycles, methods for producing same, their use for treating and/or preventing diseases, as well as their use for producing drugs for treating and/or preventing diseases, in particular bacterial infections.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft antibakterielle Amid-Makrozyklen und Verfahren zu ihrer Herstellung, ihre Verwendung zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere von bakteriellen Infektionen.

A1

WO 2006/103009

Antibakterielle Amid-Makrozyklen VI

Die Erfindung betrifft antibakterielle Amid-Makrozyklen und Verfahren zu ihrer Herstellung, ihre Verwendung zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere von bakteriellen Infektionen.

In WO 03/106480, WO 04/012816, WO 05/033129, WO 05/058943, WO 05/100380 und WO 05/118613 werden antibakteriell wirkende Makrozyklen vom Biphenomycin B Typ mit Amid- bzw. Estersubstituenten beschrieben.

In US 3,452,136, Dissertation R. U. Meyer, Universität Stuttgart, Deutschland 1991, Dissertation V. Leitenberger, Universität Stuttgart, Deutschland 1991, Synthesis (1992), (10), 1025-30, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 (1992), (1), 123-30, J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1991), (10), 744, Synthesis (1991), (5), 409-13, J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1991), (5), 275-7, J. Antibiot. (1985), 38(11), 1462-8, J. Antibiot. (1985), 38(11), 1453-61, wird der Naturstoff Biphenomycin B als antibakteriell wirksam beschrieben. Teilschritte der Synthese von Biphenomycin B werden in Synlett (2003), 4, 522-526 beschrieben.

Chirality (1995), 7(4), 181-92, J. Antibiot. (1991), 44(6), 674-7, J. Am. Chem. Soc. (1989), 111(19), 7323-7, J. Am. Chem. Soc. (1989), 111(19), 7328-33, J. Org. Chem. (1987), 52(24), 5435-7, Anal. Biochem. (1987), 165(1), 108-13, J. Org. Chem. (1985), 50(8), 1341-2, J. Antibiot. (1993), 46(3), C-2, J. Antibiot. (1993), 46(1), 135-40, Synthesis (1992), (12), 1248-54, Appl. Environ. Microbiol. (1992), 58(12), 3879-8, J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1992), (13), 951-3 beschreiben einen strukturell verwandten Naturstoff, Biphenomycin A, der am Makrozyklus eine weitere Substitution mit einer Hydroxygruppe aufweist.

Die Naturstoffe entsprechen hinsichtlich ihrer Eigenschaften nicht den Anforderungen, die an antibakterielle Arzneimittel gestellt werden. Auf dem Markt sind zwar strukturell andersartige antibakteriell wirkende Mittel vorhanden, es kann aber regelmäßig zu einer Resistenzentwicklung kommen. Neue Mittel für eine gute und wirksamere Therapie sind daher wünschenswert.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, neue und alternative Verbindungen mit gleicher oder verbesserter antibakterieller Wirkung zur Behandlung von bakteriellen Erkrankungen bei Menschen und Tieren zur Verfügung zu stellen.

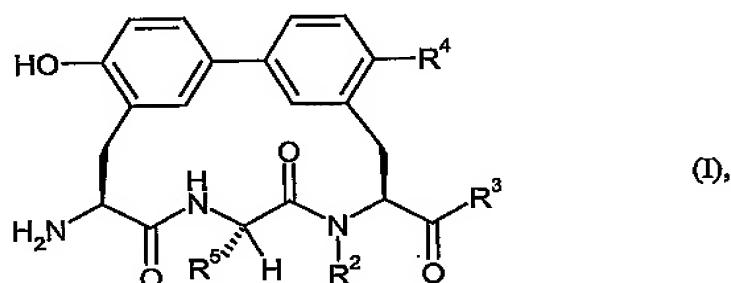
Überraschenderweise wurde gefunden, dass bestimmte Derivate dieser Naturstoffe, worin die Carboxylgruppe des Naturstoffs gegen eine tertiäre Amidgruppe ausgetauscht wird, die eine

- 2 -

basische Gruppe enthält, gegen Biphenomycin resistente *S. aureus* Stämme (RN4220Bi^R und T17) antibakteriell wirksam sind.

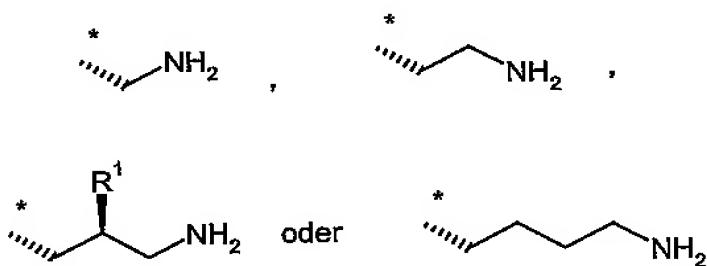
Weiterhin zeigen die Derivate gegen *S. aureus* Wildtyp-Stämme und Biphenomycin resistente *S. aureus* Stämme eine verbesserte Spontanresistenz-Frequenz.

5 Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel



bei denen

R⁵ gleich eine Gruppe der Formel



10 ist,

wobei

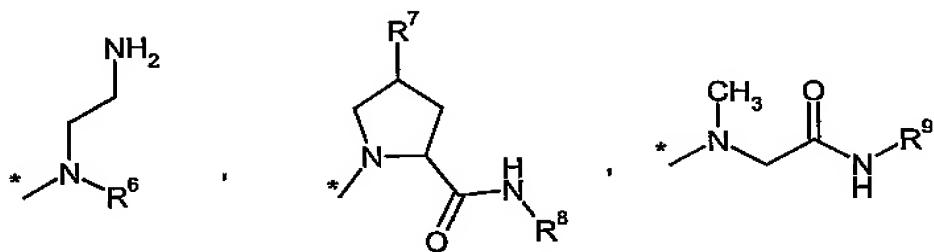
* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

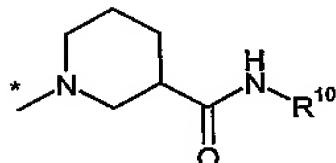
R² gleich Wasserstoff, Methyl oder Ethyl ist,

15 R³ gleich eine Gruppe der Formel

- 3 -



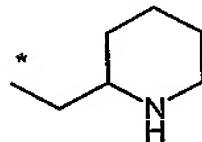
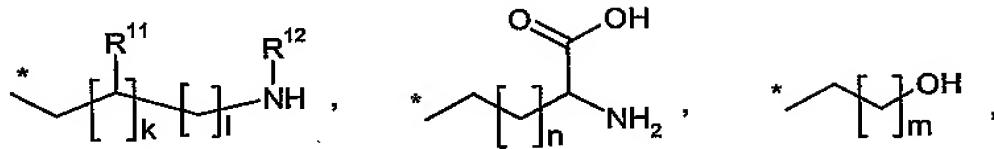
oder



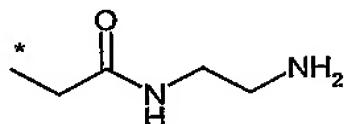
ist,

wobei

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

5 R⁶ gleich eine Gruppe der Formel

oder



ist,

worin

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

10 R¹¹ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,R¹² gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

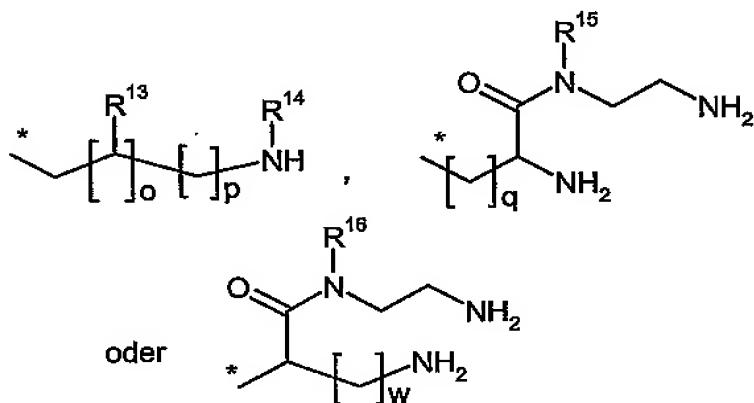
k eine Zahl 0 oder 1 ist,

- 4 -

1 eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 ist,

und

m und n unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2 oder 3 sind,

R⁷ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,5 R⁸, R⁹ und R¹⁰ unabhängig voneinander eine Gruppe der Formel

sind,

worin

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

10 R¹³ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,R¹⁴ gleich Wasserstoff oder Methyl ist,R¹⁵ und R¹⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff, Aminoethyl oder Hydroxyethyl sind,

o eine Zahl 0 oder 1 ist,

15 p, q und w unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 sind,

R⁴ gleich Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, Amino oder Methyl ist,

und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Erfindungsgemäße Verbindungen sind die Verbindungen der Formel (I) und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze, sowie die von Formel (I) umfassten, nachfolgend als Ausführungsbeispiel(e) genannten Verbindungen und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze, soweit es sich bei den von Formel (I) umfassten, nachfolgend genannten Verbindungen nicht bereits um Salze, 5 Solvate und Solvate der Salze handelt.

Die erfundungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in stereoisomeren Formen (Enantiomere, Diastereomere) existieren. Die Erfahrung betrifft deshalb die Enantiomeren oder Diastereomeren und ihre jeweiligen Mischungen. Aus solchen Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren lassen sich durch bekannte Verfahren wie Chromatographie an chiraler Phase oder Kristallisation mit chiralen Aminen oder chiralen Säuren die stereoisomer einheitlichen Bestandteile in bekannter Weise isolieren.
10

Die Erfahrung betrifft in Abhängigkeit von der Struktur der Verbindungen auch Tautomere der Verbindungen.

Als Salze sind im Rahmen der Erfahrung physiologisch unbedenkliche Salze der erfundungsgemäßen 15 Verbindungen bevorzugt.

Physiologisch unbedenkliche Salze der Verbindungen (I) umfassen Säureadditionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure, Trifluoressigsäure und Benzoësäure.
20

Physiologisch unbedenkliche Salze der Verbindungen (I) umfassen auch Salze üblicher Basen, wie beispielhaft und vorzugsweise Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- und Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Calcium- und Magnesiumsalze) und Ammoniumsalze, abgeleitet von Ammoniak oder organischen Aminen mit 1 bis 16 C-Atomen, wie beispielhaft und vorzugsweise Ethylamin, Diethylamin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Prokain, Dibenzylamin, N-Methylmorpholin, Dihydroabietylamin, Arginin, Lysin, Ethylenediamin und Methylpiperidin.
25

Als Solvate werden im Rahmen der Erfahrung solche Formen der Verbindungen bezeichnet, welche 30 in festem oder flüssigem Zustand durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen einen Komplex bilden. Hydrate sind eine spezielle Form der Solvate, bei denen die Koordination mit Wasser erfolgt.

Halogen steht für Fluor, Chlor, Brom und Jod.

- 6 -

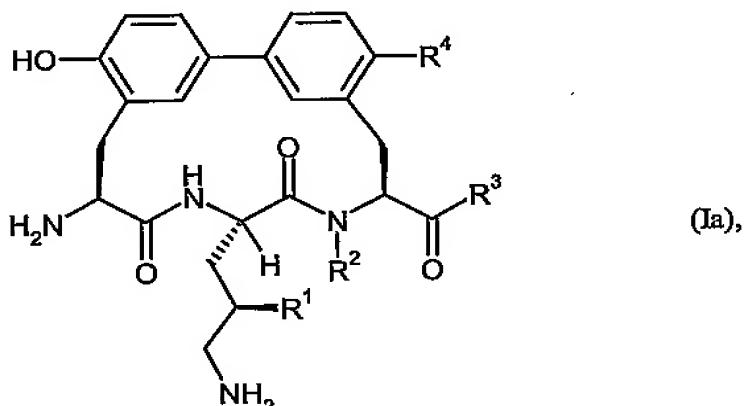
Ein Symbol # an einem Kohlenstoffatom bedeutet, dass die Verbindung hinsichtlich der Konfiguration an diesem Kohlenstoffatom in enantiomerenreiner Form vorliegt, worunter im Rahmen der vorliegenden Erfindung ein Enantiomerenüberschuss (enantiomeric excess) von mehr als 90 % verstanden wird (> 90% ee).

5 In den Formeln der Gruppen, die für R³ stehen, steht der Endpunkt der Linie, neben der jeweils ein * steht, nicht für ein Kohlenstoffatom beziehungsweise eine CH₂-Gruppe sondern ist Bestandteil der Bindung zu der Carbonyl-Gruppe, an das R³ gebunden ist.

In den Formeln der Gruppen, für die R⁵ stehen kann, steht der Endpunkt der Linie, neben der jeweils ein * steht, nicht für ein Kohlenstoffatom beziehungsweise eine CH₂-Gruppe sondern ist Bestandteil der Bindung zu dem Kohlenstoffatom, an das R⁷ gebunden ist.

10 In den Formeln der Gruppen, die für R⁶, R⁸, R⁹ und R¹⁰ stehen, steht der Endpunkt der Linie, neben der jeweils ein * steht, nicht für ein Kohlenstoffatom beziehungsweise eine CH₂-Gruppe sondern ist Bestandteil der Bindung zu dem Stickstoffatom, an das R⁶, R⁸, R⁹ und R¹⁰ gebunden sind.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel



15

bei denen

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

R² gleich Wasserstoff, Methyl oder Ethyl ist,

R³ wie oben definiert ist,

20 R⁴ gleich Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, Amino oder Methyl ist,

und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder (Ia), bei denen

R² gleich Wasserstoff ist.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder

5 (Ia), bei denen

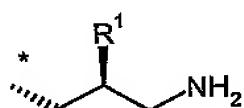
R⁴ gleich Wasserstoff, Hydroxy, Chlor oder Methyl ist.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder (Ia), bei denen

R⁴ gleich Hydroxy ist.

10 Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder (Ia), bei denen

R⁵ gleich eine Gruppe der Formel



ist,

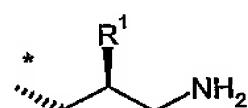
15 wobei

* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder (Ia), bei denen

20 R⁵ gleich eine Gruppe der Formel



ist,

- 8 -

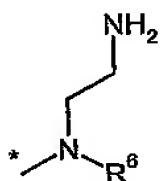
wobei

* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

R² gleich Wasserstoff ist,

5 R³ gleich eine Gruppe der Formel

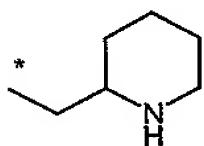
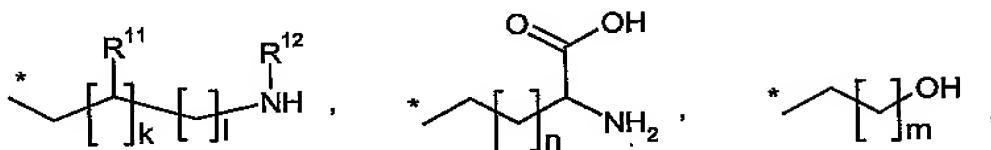


ist,

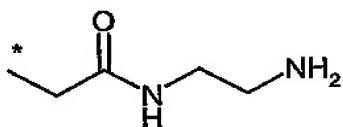
wobei

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

10 R⁶ gleich eine Gruppe der Formel



oder



ist,

worin

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

15 R¹¹ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

R¹² gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

- 9 -

k eine Zahl 0 oder 1 ist,

l eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 ist,

und

m und n unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2 oder 3 sind,

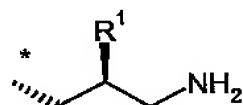
5 R⁴ gleich Hydroxy ist,

und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder (Ia), bei denen

R⁵ gleich eine Gruppe der Formel

10



ist,

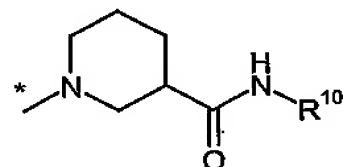
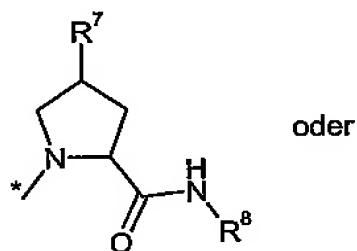
wobei

* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

15 R² gleich Wasserstoff ist,

R³ gleich eine Gruppe der Formel

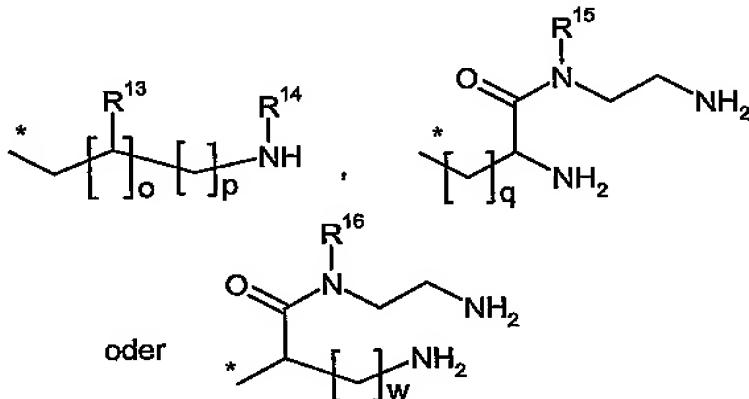


ist,

wobei

- 10 -

- * die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,
- R^7 gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,
- R^8 und R^{10} unabhängig voneinander eine Gruppe der Formel



5 sind,

worin

- * die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,
- R^{13} gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,
- R^{14} gleich Wasserstoff oder Methyl ist,
- 10 R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander Wasserstoff, Aminoethyl oder Hydroxyethyl sind,

o eine Zahl 0 oder 1 ist,

p, q und w unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 sind,

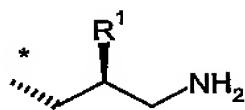
R^4 gleich Hydroxy ist,

15 und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) oder (Ia), bei denen

R^5 gleich eine Gruppe der Formel

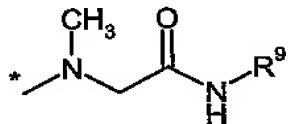
- 11 -



ist,

wobei

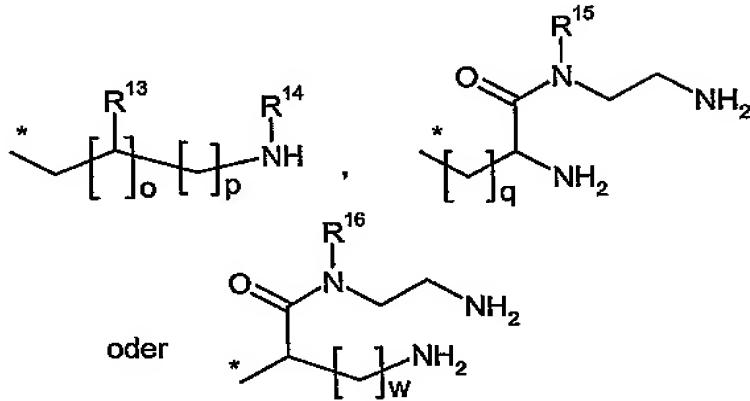
* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

5 R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,R² gleich Wasserstoff ist,R³ gleich eine Gruppe der Formel

ist,

10 wobei

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R⁹ eine Gruppe der Formel

ist,

15

worin

- 12 -

- * die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,
- R¹³ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,
- R¹⁴ gleich Wasserstoff oder Methyl ist,
- R¹⁵ und R¹⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff, Aminoethyl oder Hydroxyethyl sind,

5

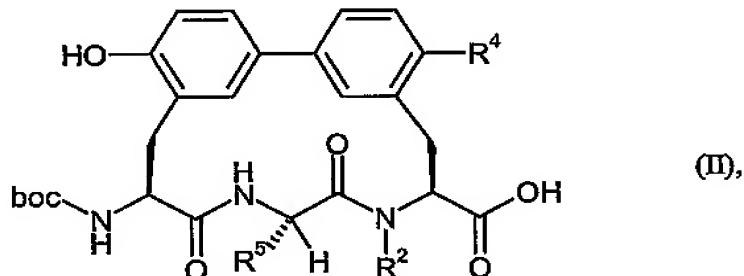
- o eine Zahl 0 oder 1 ist,
- p, q und w unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 sind,

R⁴ gleich Hydroxy ist,

und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

10 Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel (I) oder ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze, wobei nach Verfahren

[A] Verbindungen der Formel



worin R², R⁴ und R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben und boc gleich *tert*-Butoxycarbonyl
15 ist,

in einem zweistufigen Verfahren zunächst in Gegenwart von einem oder mehreren Dehydratisierungsreagenzien mit Verbindungen der Formel

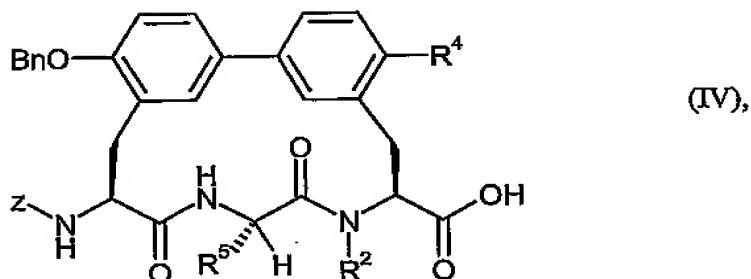


worin R³ die oben angegebene Bedeutung hat,

20 und anschließend mit einer Säure und/oder durch Hydrogenolyse umgesetzt werden,

oder

[B] Verbindungen der Formel



worin R^2 , R^4 und R^5 die oben angegebene Bedeutung haben und Z gleich Benzyloxycarbonyl ist,

5 in einem zweistufigen Verfahren zunächst in Gegenwart von einem oder mehreren Dehydratisierungsreagenzien mit Verbindungen der Formel



worin R^3 die oben angegebene Bedeutung hat,

und anschließend mit einer Säure oder durch Hydrogenolyse umgesetzt werden.

10 Die freie Base der Salze kann zum Beispiel durch Chromatographie an einer Reversed Phase Säule mit einem Acetonitril-Wasser-Gradienten unter Zusatz einer Base erhalten werden, insbesondere durch Verwendung einer RP18 Phenomenex Luna C18(2) Säule und Diethylamin als Base.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel (I) oder ihrer Solvate nach Anspruch 1, bei dem Salze der Verbindungen oder Solvate der 15 Salze der Verbindungen durch Chromatographie unter Zusatz einer Base in die Verbindungen überführt werden.

Die Hydroxygruppe an R^1 ist gegebenenfalls während der Umsetzung mit Verbindungen der Formel (III) mit einer *tert*-Butyldimethylsilyl-Gruppe geschützt, die im zweiten Reaktionsschritt abgespalten wird.

20 Reaktive Funktionalitäten in dem Rest R^3 von Verbindungen der Formel (III) werden bereits geschützt mit in die Synthese eingebracht, bevorzugt sind säurelabile Schutzgruppen (z.B. boc). Nach erfolgter Umsetzung zu Verbindungen der Formel (I) können die Schutzgruppen durch Entschützungsreaktion abgespalten werden. Dies geschieht nach Standardverfahren der

Schutzgruppenchemie. Bevorzugt sind Entschützungsreaktionen unter sauren Bedingungen oder durch Hydrogenolyse.

Die Umsetzung der ersten Stufe der Verfahren [A] und [B] erfolgt im Allgemeinen in inerten Lösungsmitteln, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C bei Normaldruck.

5 Als Dehydratisierungsreagenzien eignen sich hierbei beispielsweise Carbodiimide wie z.B. *N,N'*-Diethyl-, *N,N'*-Dipropyl-, *N,N'*-Diisopropyl-, *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, *N*-(3-Dimethylamino-isopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid (EDC), *N*-Cyclohexylcarbodiimid-*N'*-propyloxy-methyl-Polystyrol (PS-Carbodiimid) oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimidazol, oder
10 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfat oder 2-tert.-Butyl-5-methyl-isoxazolium-perchlorat, oder Acylaminoverbindungen wie 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, oder Propanphosphonsäureanhydrid, oder Isobutylchloroformat, oder Bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphorylchlorid oder Benzotriazolyloxy-tri(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat, oder O-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetra-methyluroniumhexafluorophosphat (HBTU), 15 2-(2-Oxo-1-(2H)-pyridyl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TPTU) oder O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU), oder 1-Hydroxybenzotriazol (HOBr), oder Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)-phosphonium-hexafluoro-phosphat (BOP), oder Benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)-phosphoniumhexafluoro-phosphat (PyBOP), oder Mischungen aus diesen, oder Mischung aus diesen zusammen mit Basen.
20 Basen sind beispielsweise Alkalicarbonate, wie z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder -hydrogencarbonat, oder organische Basen wie Trialkylamine z.B. Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, 4-Dimethylaminopyridin oder Diisopropylethylamin.

Vorzugsweise wird die Kondensation mit HATU in Gegenwart einer Base, insbesondere Diisopropylethylamin, oder mit PyBOP in Gegenwart einer Base, insbesondere Diisopropylethylamin, durchgeführt.

Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan oder Trichlormethan, Kohlenwasserstoff wie Benzol, oder Nitromethan, Dioxan, Dimethylformamid oder Acetonitril. Ebenso ist es möglich, Gemische der Lösemittel einzusetzen. Besonders bevorzugt ist Dimethylformamid.

30 Die Umsetzung mit einer Säure in der zweiten Stufe der Verfahren [A] und [B] erfolgt bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C bei Normaldruck.

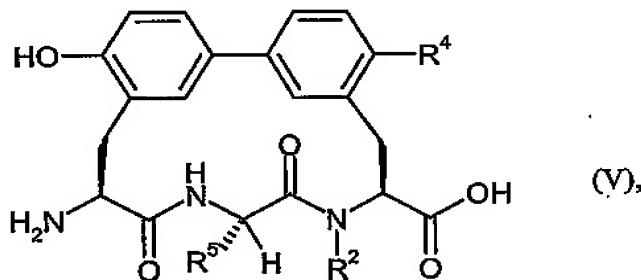
Als Säuren eignen sich hierbei Chlorwasserstoff in Dioxan, Bromwasserstoff in Essigsäure oder Trifluoressigsäure in Methylchlorid.

Die Hydrogenolyse in der zweiten Stufe des Verfahrens [B] erfolgt im Allgemeinen in einem Lösungsmittel in Gegenwart von Wasserstoff und Palladium auf Aktivkohle, bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C bei Normaldruck.

Lösungsmittel sind beispielsweise Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol oder iso-Propanol, in einem Gemisch mit Wasser und Eisessig, bevorzugt ist ein Gemisch aus Ethanol, Wasser und Eisessig.

Die Verbindungen der Formel (III) sind bekannt oder können analog bekannten Verfahren hergestellt werden.

Die Verbindungen der Formel (II) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel



worin R², R⁴ und R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben,

mit Di-(*tert*-butyl)-dicarbonat in Gegenwart einer Base umgesetzt werden.

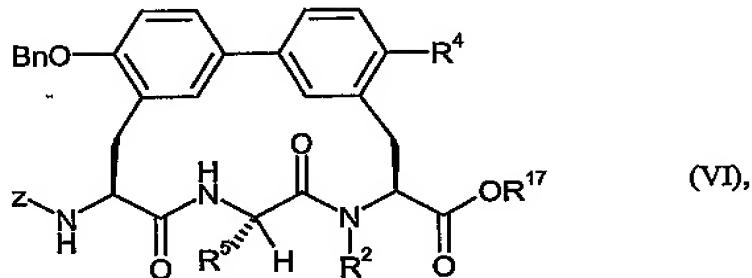
Die Umsetzung erfolgt im Allgemeinen in einem Lösungsmittel, bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C bei Normaldruck.

Basen sind beispielsweise Alkalihydroxide wie Natrium- oder Kaliumhydroxid, oder Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder andere Basen wie DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt ist Natriumhydroxid oder Natriumcarbonat.

Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylchlorid oder 1,2-Dichlorethan, Alkohole wie Methanol, Ethanol oder iso-Propanol, oder Wasser.

Vorzugsweise wird die Umsetzung mit Natriumhydroxid in Wasser oder Natriumcarbonat in Methanol durchgeführt.

Die Verbindungen der Formel (V) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel



worin R², R⁴ und R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben, und

5 R¹⁷ gleich Benzyl, Methyl oder Ethyl ist,

mit einer Säure oder durch Hydrogenolyse, wie für die zweite Stufe des Verfahrens [B] beschrieben, gegebenenfalls durch anschließende Umsetzung mit einer Base zur Verseifung des Methyl- oder Ethylesters, umgesetzt werden.

Die Verseifung kann zum Beispiel erfolgen, wie bei der Umsetzung von Verbindungen der Formel
10 (VI) zu Verbindungen der Formel (IV) beschrieben.

Die Verbindungen der Formel (IV) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem in Verbindungen der Formel (VI) der Benzyl-, Methyl- oder Ethylester verseift wird.

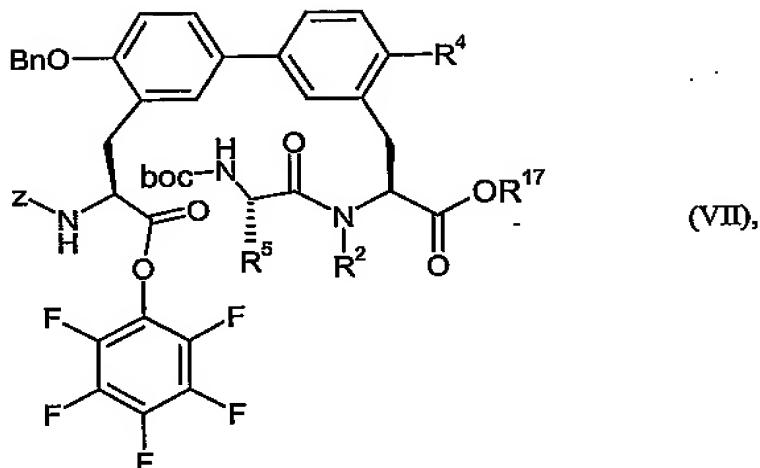
Die Umsetzung erfolgt im Allgemeinen in einem Lösungsmittel, in Gegenwart einer Base, bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C bei Normaldruck.

15 Basen sind beispielsweise Alkalihydroxide wie Lithium-, Natrium- oder Kaliumhydroxid, bevorzugt ist Lithiumhydroxid.

Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan oder Trichlormethan, Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder Alkohole wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol, oder Dimethylformamid. Ebenso ist es möglich, Gemische der Lösungsmittel oder
20 Gemische der Lösungsmittel mit Wasser einzusetzen. Besonders bevorzugt sind Tetrahydrofuran oder ein Gemisch aus Methanol und Wasser.

Die Verbindungen der Formel (VI) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel

- 17 -



worin R^2 , R^4 , R^5 und R^{17} die oben angegebene Bedeutung haben,

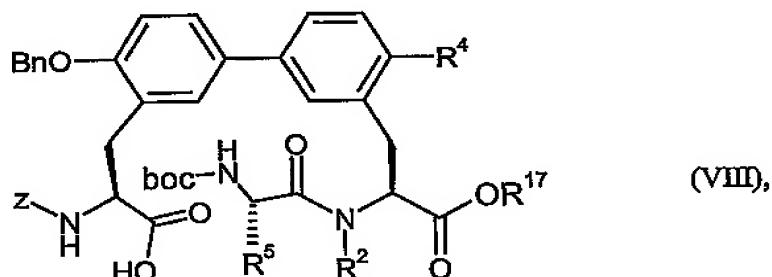
in der ersten Stufe mit Säuren, wie für die zweite Stufe der Verfahren [A] und [B] beschrieben, und in der zweiten Stufe mit Basen umgesetzt werden.

5 In der zweiten Stufe erfolgt die Umsetzung mit Basen im Allgemeinen in einem Lösungsmittel, bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C bei Normaldruck.

Basen sind beispielsweise Alkalihydroxide wie Natrium- oder Kaliumhydroxid, oder Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder andere Basen wie DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt ist Triethylamin.

10 Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Chloroform, Methylenchlorid oder 1,2-Dichlorethan, oder Tetrahydrofuran, oder Gemische der Lösungsmittel, bevorzugt ist Methylenchlorid oder Tetrahydrofuran.

Die Verbindungen der Formel (VII) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel



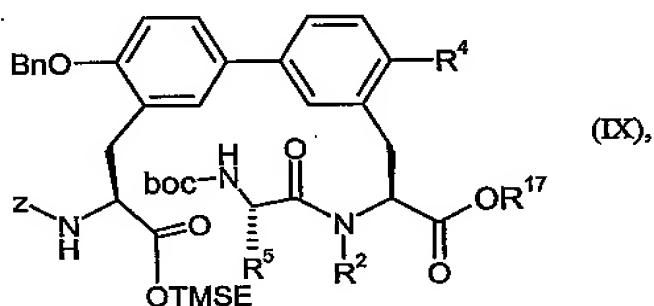
15

worin R^2 , R^4 , R^5 und R^{17} die oben angegebene Bedeutung haben,

mit Pentafluorphenol in Gegenwart von Dehydratisierungsreagenzien, wie für die erste Stufe der Verfahren [A] und [B] beschrieben, umgesetzt werden.

Die Umsetzung erfolgt bevorzugt mit DMAP und EDC in Dichlormethan in einem Temperaturbereich von -40°C bis 40°C bei Normaldruck.

5 Die Verbindungen der Formel (VIII) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel



worin R^2 , R^4 , R^5 und R^{17} die oben angegebene Bedeutung haben,

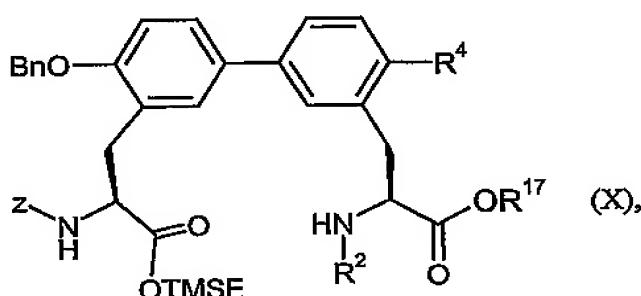
mit Fluorid, insbesondere mit Tetrabutylammoniumfluorid, umgesetzt werden.

10 Die Umsetzung erfolgt im Allgemeinen in einem Lösungsmittel, bevorzugt in einem Temperaturbereich von -10°C bis 30°C bei Normaldruck.

Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, oder Kohlenwasserstoffe wie Benzol oder Toluol, oder Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder Dimethylformamid. Ebenso ist es möglich, Gemische der Lösemittel einzusetzen. Bevorzugte

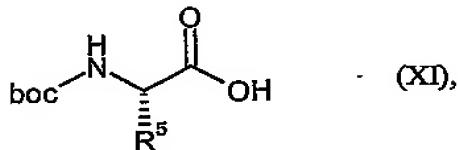
15 Lösungsmittel sind Tetrahydrofuran und Dimethylformamid.

Die Verbindungen der Formel (IX) sind bekannt oder können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel



worin R², R⁴ und R¹⁷ die oben angegebene Bedeutung haben,

mit Verbindungen der Formel



worin R⁵ die oben angegebene Bedeutung hat,

5 in Gegenwart von Dehydratisierungsreagenzien, wie für die erste Stufe der Verfahren [A] und [B] beschrieben, umgesetzt werden.

Die Verbindungen der Formel (X) sind bekannt oder können analog den im Beispielteil beschriebenen Verfahren hergestellt werden.

10 Die Verbindungen der Formel (XI) sind bekannt oder können analog bekannten Verfahren hergestellt werden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches und pharmakokinetisches Wirkspektrum.

Sie eignen sich daher zur Verwendung als Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten bei Menschen und Tieren.

15 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften allein oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Infektionskrankheiten, insbesondere von bakteriellen Infektionen, eingesetzt werden.

Beispielsweise können lokale und/oder systemische Erkrankungen behandelt und/oder verhindert werden, die durch die folgenden Erreger oder durch Mischungen der folgenden Erreger verursacht 20 werden:

Gram-positive Kokken, z.B. Staphylokokken (Staph. aureus, Staph. epidermidis) und Streptokokken (Strept. agalactiae, Strept. faecalis, Strept. pneumoniae, Strept. pyogenes); gram-negative Kokken (neisseria gonorrhoeae) sowie gram-negative Stäbchen wie Enterobakteriaceen, z.B. Escherichia coli, Hämophilus influenzae, Citrobacter (Citrob. freundii, 25 Citrob. divernis), Salmonella und Shigella; ferner Klebsiellen (Klebs. pneumoniae, Klebs. oxytocy), Enterobacter (Ent. aerogenes, Ent. agglomerans), Hafnia, Serratia (Serr. marcescens),

Proteus (Pr. mirabilis, Pr. rettgeri, Pr. vulgaris), Providencia, Yersinia, sowie die Gattung Acinetobacter. Darüber hinaus umfaßt das antibakterielle Spektrum die Gattung Pseudomonas (Ps. aeruginosa, Ps. maltophilia) sowie strikt anaerobe Bakterien wie z.B. Bacteroides fragilis, Vertreter der Gattung Peptococcus, Peptostreptococcus sowie die Gattung Clostridium; ferner Mykoplasmen (M. pneumoniae, M. hominis, M. urealyticum) sowie Mykobakterien, z.B. Mycobacterium tuberculosis.

Die obige Aufzählung von Erregern ist lediglich beispielhaft und keineswegs beschränkend aufzufassen. Als Krankheiten, die durch die genannten Erreger oder Mischinfektionen verursacht und durch die erfindungsgemäßen topisch anwendbaren Zubereitungen verhindert, gebessert oder geheilt werden können, seien beispielsweise genannt:

Infektionskrankheiten beim Menschen wie z. B. septische Infektionen, Knochen- und Gelenkinfektionen, Hautinfektionen, postoperative Wundinfektionen, Abszesse, Phlegmone, Wundinfektionen, infizierte Verbrennungen, Brandwunden, Infektionen im Mundbereich, Infektionen nach Zahnoperationen, septische Arthritis, Mastitis, Tonsillitis, Genital-Infektionen und Augeninfektionen.

15

Außer beim Menschen können bakterielle Infektionen auch bei anderen Spezies behandelt werden. Beispielhaft seien genannt:

Schwein: Coli-diarrhoe, Enterotoxämie, Sepsis, Dysenterie, Salmonellose, Metritis-Mastitis-Agallaktiae-Syndrom, Mastitis;

20 Wiederkäuer (Rind, Schaf, Ziege): Diarrhoe, Sepsis, Bronchopneumonie, Salmonellose, Pasteurellose, Mykoplasmose, Genitalinfektionen;

Pferd: Bronchopneumonien, Fohlenlähme, puerperale und postpuerperale Infektionen, Salmonellose;

Hund und Katze: Bronchopneumonie, Diarrhoe, Dermatitis, Otitis, Harnwegsinfekte, Prostatitis;

25 Geflügel (Huhn, Pute, Wachtel, Taube, Ziervögel und andere): Mykoplasmose, E. coli-Infektionen, chronische Luftwegserkrankungen, Salmonellose, Pasteurellose, Psittakose.

Ebenso können bakterielle Erkrankungen bei der Aufzucht und Haltung von Nutz- und Zierfischen behandelt werden, wobei sich das antibakterielle Spektrum über die vorher genannten Erreger hinaus auf weitere Erreger wie z.B. Pasteurella, Brucella, Campylobacter, Listeria, Erysipelothris, Corynebakterien, Borellia, Treponema, Nocardia, Rickettsie, Yersinia, erweitert.

30

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist der Einsatz der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, vorzugsweise von bakteriellen Krankheiten, insbesondere von bakteriellen Infektionen.

5 Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

10 Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen, unter Verwendung einer antibakteriell wirksamen Menge der erfindungsgemäßen Verbindungen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck können sie auf geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, 15 nasal, sublingual, lingual, buccal, rectal, dermal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat bzw. Stent.

Für diese Applikationswege können die erfindungsgemäßen Verbindungen in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Für die orale Applikation eignen sich nach dem Stand der Technik funktionierende schnell und/oder modifizierte erfindungsgemäßen Verbindungen abgebende Applikationsformen, die die erfindungsgemäßen Verbindungen in kristalliner und/ oder amorphisierter und/oder gelöster Form enthalten, wie z.B. Tabletten (nichtüberzogene oder überzogene Tabletten, beispielsweise mit magensaftresistenten oder sich verzögert auflösenden oder unlöslichen Überzügen, die die Freisetzung der erfindungsgemäßen Verbindung kontrollieren), in der Mundhöhle schnell zerfallende Tabletten oder Filme/Oblaten, Filme/Lyophilisate, Kapseln (beispielsweise Hart- oder Weichgelatinekapseln), Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen, Aerosole oder Lösungen.

Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (z.B. intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer 30 Resorption (z.B. intramuskulär, subcutan, intracutan, percutan oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten oder sterilen Pulvern.

Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhalatoren, Nebulizer), Nasentropfen, -lösungen, -sprays; lingual, sublingual oder buccal zu applizierende Tabletten, Filme/Oblaten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- oder Augenpräparationen, Vaginalkapseln, wässrige Suspensionen (Lotionen, Schüttelmixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, transdermale therapeutische Systeme (wie beispielsweise Pflaster), Milch, Pasten, Schäume, Streupuder, Implantate oder Stents.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies kann in an sich bekannter Weise durch Mischen mit inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen geschehen. Zu diesen Hilfsstoffen zählen u.a. Trägerstoffe (beispielsweise mikrokristalline Cellulose, Laktose, Mannitol), Lösungsmittel (z.B. flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren und Dispergier- oder Netzmittel (beispielsweise Natriumdodecylsulfat, Polyoxyxorbitanoleat), Bindemittel (beispielsweise Polyvinylpyrrolidon), synthetische und natürliche Polymere (beispielsweise Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien wie beispielsweise Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie beispielsweise Eisenoxide) und Geschmacks- und / oder Geruchskorrigentien.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, üblicherweise zusammen mit einem oder mehreren inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen enthalten, sowie deren Verwendung zu den zuvor genannten Zwecken.

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 5 bis 250 mg/kg Körpergewicht je 24 h zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen. Bei oraler Applikation beträgt die Menge etwa 5 bis 100 mg/kg Körpergewicht je 24 h.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozente; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen.

A. Beispiele**Verwendete Abkürzungen:**

abs.	absolut
aq.	wässrig
Bn	Benzyl
boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
Bsp.	Beispiel
CDCl ₃	Chloroform
CH	Cyclohexan
d	doublett (im ¹ H-NMR)
dd	doublett von doublett (im ¹ H-NMR)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIEA	Diisopropylethylamin (Hünig-Base)
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMAP	4-N,N-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
d. Th.	der Theorie
EDC	N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid x HCl
EE	Ethylacetat (Essigsäureethylester)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
ges.	gesättigt
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HBTU	O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HOEt	1-Hydroxy-1H-benzotriazol x H ₂ O
h	Stunde(n)
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
LC-MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektroskopie
m	multiplett (im ¹ H-NMR)
min	Minute

MS	Massenspektroskopie
NMR	Kernresonanzspektroskopie
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
Pd/C	Palladium/Kohle
PPF	Pentafluorphenol
proz.	Prozent
PyBOP	Benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)-phosphoniumhexafluorophosphat
q	quartett (im $^1\text{H-NMR}$)
R _f	Retentionsindex (bei DC)
RP	Reverse Phase (bei HPLC)
RT	Raumtemperatur
R _t	Retentionszeit (bei HPLC)
s	singulett (im $^1\text{H-NMR}$)
t	triplett (im $^1\text{H-NMR}$)
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMSE	2-(Trimethylsilyl)-ethyl
TPTU	2-(2-Oxo-1(2H)-pyridyl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumtetrafluoroborat
Z	Benzyloxycarbonyl

LC-MS- und HPLC-Methoden:

Methode 1 (LC-MS): Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: Waters Alliance 2795; Säule: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90%A \rightarrow 2.5 min 30%A \rightarrow 3.0 min 5%A \rightarrow 4.5 min 5%A; Fluss: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 2 (LC-MS): Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; Säule: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90%A \rightarrow 2.5 min 30%A \rightarrow 3.0 min 5%A \rightarrow 4.5 min 5%A; Fluss: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 3 (LC-MS): Instrument: Micromass Quattro LCZ mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90%A \rightarrow 2.5 min 30%A \rightarrow 3.0 min 5%A \rightarrow 4.5 min 5%A; Fluss: 0.0 min 1 ml/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 208- 400 nm.

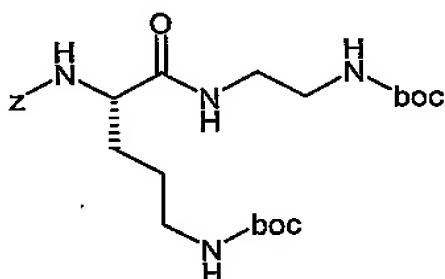
Methode 4 (LC-MS): Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: Waters Alliance 2795; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e 50 mm x 4.6 mm; Eluent A: Wasser + 500 μ l 50%ige Ameisensäure / 1; Eluent B: Acetonitril + 500 μ l 50%ige Ameisensäure / 1; Gradient: 0.0 min 10%B \rightarrow 3.0 min 95%B \rightarrow 4.0 min 95%B; Ofen: 35°C; Fluss: 0.0 min 1.0 ml/min \rightarrow 3.0 min 10 ml/min \rightarrow 4.0 min 3.0 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 5 (LC-MS): Instrument: Micromass Platform LCZ mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Thermo HyPURITY Aquastar 3 μ 50 mm x 2.1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100%A \rightarrow 0.2 min 100%A \rightarrow 2.9 min 30%A \rightarrow 3.1 min 10%A \rightarrow 5.5 min 10%A; Ofen: 50°C; Fluss: 0.8 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 6 (LC-MS): Instrument: Micromass Platform LCZ mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Thermo Hypersil GOLD-3 μ 20 x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100%A \rightarrow 0.2 min 100%A \rightarrow 2.9 min 30%A \rightarrow 3.1 min 10%A \rightarrow 5.5 min 10%A; Ofen: 50°C; Fluss: 0.8 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

AusgangsverbindungenBeispiel 1A

Benzyl-{(1*S*)-4-[*(tert*-butoxycarbonyl)amino]-1-[{2-[*(tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl}amino]-carbonyl]butyl}carbamat



5

Unter Argon werden 300 mg (0.82 mmol) *N*²-[(Benzylxy)carbonyl]-*N*⁵-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-ornithin und 171 mg (1.06 mmol) *tert*-Butyl-(2-aminoethyl)carbamat in 6 ml Dimethylformamid gelöst. Bei 0°C (Eisbad) werden dann 204 mg (1.06 mmol) EDC und 33 mg (0.25 mmol) HOBt zugegeben. Es wird langsam auf RT erwärmt und für 12 h bei RT geführt. Die Lösung wird im 10 Vakuum eingeengt und der Rückstand wird mit Essigsäureethylester aufgenommen. Die organische Phase wird nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der verbleibende Feststoff wird im Hochvakuum getrocknet.

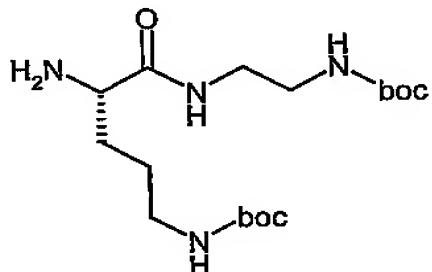
Ausbeute: 392 mg (94% d. Th.)

15 LC-MS (Methode 1): R_t = 2.36 min.

MS (ESI): m/z = 509 (M+H)⁺

Beispiel 2A

N⁵-(tert-Butoxycarbonyl)-N-{2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethyl}-L-ornithinamid



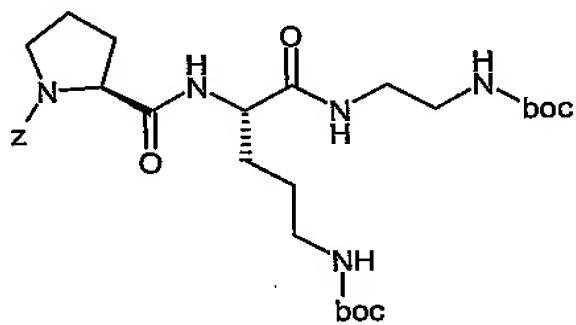
Eine Lösung von 390 mg (0.77 mmol) Benzyl-((1*S*)-4-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-1-[(2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethyl)amino]carbonyl]butyl}carbamat (Beispiel 1A) in 50 ml Ethanol wird nach Zugabe von 40 mg Palladium auf Aktivkohle (10%ig) 4 h bei RT und Normaldruck hydriert. Es wird über Kieselgur filtriert und der Rückstand mit Ethanol gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum zur Trockne eingeengt. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: 263 mg (91% d. Th.)

MS (ESI): m/z = 375 (M+H)⁺; 397 (M+Na)⁺.

Beispiel 3A

1-[(Benzylxy)carbonyl]-L-prolyl-*N⁵*-(tert-butoxycarbonyl)-*N*-{2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethyl}-L-ornithinamid



Unter Argon werden 48 mg (0.194 mmol) 1-[(Benzylxy)carbonyl]-L-prolin und 94 mg (0.25 mmol) der Verbindung aus Beispiel 2A in 6 ml Dimethylformamid gelöst. Bei 0°C (Eisbad) werden dann 48 mg (0.25 mmol) EDC und 7.8 mg (0.058 mmol) HOBr zugegeben. Es wird langsam auf RT erwärmt und für 12 h bei RT gerührt. Die Lösung wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand mit Dichlormethan aufgenommen und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-

- 28 -

Lösung, 0.1 N Salzsäure und Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum eingeengt und der so erhaltene Feststoff ohne Reinigung weiter umgesetzt.

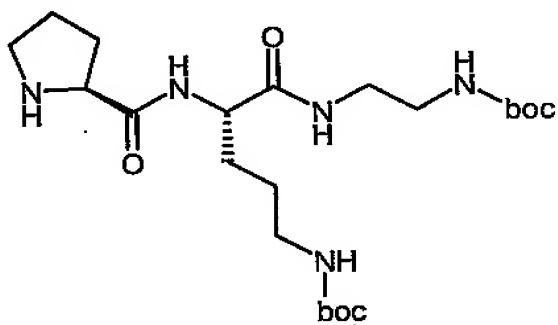
Ausbeute: 117 mg (95% d. Th.)

LC-MS (Methode 3): $R_t = 2.36$ min.

5 MS (ESI): $m/z = 606$ ($M+H$)⁺

Beispiel 4A

*L-Proyl-N⁵-(*tert*-butoxycarbonyl)-N-{2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl}-L-ornithinamid*



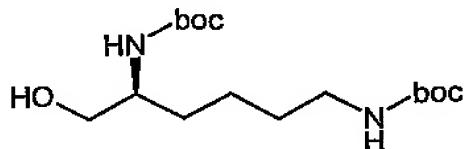
117 mg (0.193 mmol) der Verbindung aus Beispiel 3A werden in 50 ml Ethanol gelöst und mit 20
10 mg Palladium auf Aktivkohle (10%ig) versetzt. Man hydriert 12 h bei Normaldruck, filtriert über Kieselgur und engt das Filtrat im Vakuum ein. Der so erhaltene Feststoff wird ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 86 mg (94% d. Th.)

MS (ESI): $m/z = 472$ ($M+H$)⁺

15 Beispiel 5A

tert-Butyl-{(5*S*)-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-6-hydroxyhexyl}carbamat



Eine Lösung von 475 mg (0.90 mmol) *N²,N⁶-Bis(tert-butoxycarbonyl)-L-lysin - N-Cyclohexylcyclohexanamin* (1:1) in 10 ml Tetrahydrofuran wird bei -10°C mit 91 mg (0.90 mmol) 4-Me-

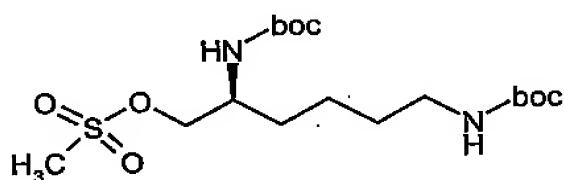
thylmorpholin und 98 mg (0.90 mmol) Chlorameisensäureethylester versetzt und 30 min gerührt. Bei dieser Temperatur werden 1.81 ml (1.81 mmol) einer 1M Lösung von Lithium-aluminiumhydrid in Tetrahydrofuran langsam zugetropft. Es wird langsam auf RT erwärmt und für 12 h bei RT gerührt. Unter Eiskühlung gibt man vorsichtig 0.1 ml Wasser und 0.15 ml 4.5%ige 5 Natriumhydroxid-Lösung hinzu und röhrt weitere 3 h bei RT. Der Ansatz wird filtriert und das Filtrat wird im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird in Essigsäureethylester gelöst, mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und erneut im Vakuum zur Trockne eingeengt. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: 250 mg (83% d. Th.)

10 MS (ESI): $m/z = 333 (M+H)^+$.

Beispiel 6A

(2S)-2,6-Bis[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]hexyl-methansulfonat



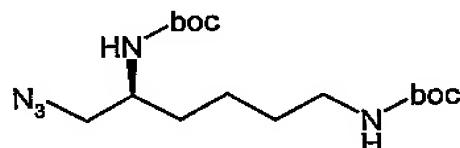
Eine Lösung von 250 mg (0.75 mmol) der Verbindung aus Beispiel 5A in 20 ml Dichlormethan 15 wird mit 103 mg (0.90 mmol) Methansulfonsäurechlorid und 0.21 ml (1.5 mmol) Triethylamin versetzt und für 16 h bei RT gerührt. Es wird mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit 0.1N Salzsäure gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum bis zur Trockne eingeengt. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: 264 mg (86% d. Th.)

20 MS (DCI): $m/z = 428 (M+NH_4)^+$.

Beispiel 7A

tert-Butyl-{(5*S*)-6-azido-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]hexyl} carbamat



- 30 -

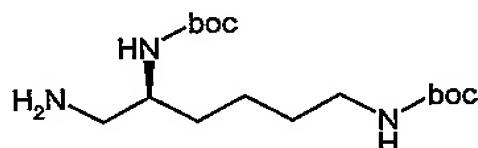
Eine Lösung von 264 mg (0.64 mmol) der Verbindung aus Beispiel 6A in 15 ml Dimethylformamid wird mit 42 mg (0.64 mmol) Natriumazid versetzt und 12 h bei 70°C gerichtet. Ein Großteil des Lösungsmittel wird im Vakuum abdestilliert und der Rückstand wird mit Essigsäureethylester verdünnt. Es wird mehrmals mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingeengt. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: quant.

MS (ESI): $m/z = 358 (M+H)^+$.

Beispiel 8A

10 *tert*-Butyl- $\{(5S)$ -6-amino-5-[$(tert$ -butoxycarbonyl)amino]hexyl}carbamat



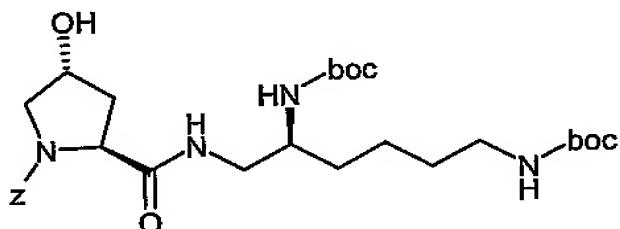
Eine Lösung von 229 mg (0.64 mmol) der Verbindung aus Beispiel 7A in 10 ml Ethanol wird nach Zugabe von 20 mg Palladium auf Aktivkohle (10%ig) 12 h bei RT und Normaldruck hydriert. Es wird über Kieselgur filtriert und der Rückstand mit Ethanol gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum zur Trockne eingeengt. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: 161 mg (76% d. Th.)

MS (ESI): $m/z = 332 (M+H)^+$.

Beispiel 9A

Benzyl-(2*S*,4*R*)-2-[{({(2*S*)-2,6-bis[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]hexyl}amino)carbonyl]-4-hydroxypyrrolidin-1-carboxylat



5 Die Herstellung erfolgt analog zu Beispiel 3A aus 57 mg (0.216 mmol) (4*R*)-1-[(Benzyl-oxy)carbonyl]-4-hydroxy-*L*-prolin und 93 mg (0.28 mmol) der Verbindung aus Beispiel 8A in 6 ml Dimethylformamid unter Zusatz von 54 mg (0.28 mmol) EDC und 8.7 mg (0.065 mmol) HOBr. Das Produkt wird mittels präparativer RP-HPLC gereinigt (Laufmittel Wasser / Acetonitril Gradient: 90:10 → 5:95).

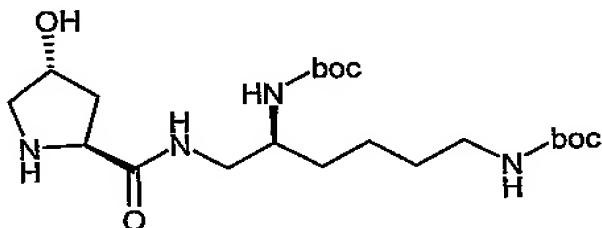
10 Ausbeute: 42 mg (34% d. Th.)

LC-MS (Methode 1): $R_t = 2.08 \text{ min.}$

MS (ESI): $m/z = 579 (\text{M}+\text{H})^+$

Beispiel 10A

(4*R*)-*N*-{({(2*S*)-2,6-Bis[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]hexyl}amino)-4-hydroxy-*L*-prolinamid



15

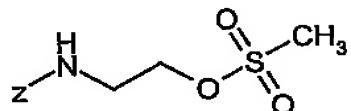
Die Herstellung erfolgt analog Beispiel 4A aus 41 mg (0.071 mmol) der Verbindung aus Beispiel 9A in 20 ml Ethanol unter Zusatz von 7.5 mg Palladium auf Aktivkohle (10%ig). Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: quant.

20 MS (ESI): $m/z = 445 (\text{M}+\text{H})^+$

Beispiel 11A

2-{[(Benzyl)carbonyl]amino}ethyl-methansulfonat



Zu einer Lösung von 16 g (82.0 mmol) Benzyl-(2-hydroxyethyl)carbamat und 16.60 g (64.02 mmol) Triethylamin in 1 l Dichlormethan werden 11.3 g (98.4 mmol) Methansulfonsäurechlorid hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei RT gerührt. Man gibt Wasser hinzu, und die organische Phase wird nacheinander mit Wasser und Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der verbleibende Feststoff wird im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird durch präparative HPLC aufgereinigt.

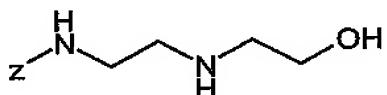
Ausbeute 7 g (31% d. Th.)

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.84$ min.

MS (ESI): $m/z = 273$ ($M+H$)⁺.

Beispiel 12A

Benzyl-{2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl}-carbamat



15

Zu einer Lösung von 226 mg (3.66 mmol) 2-Aminoethanol in 25 ml Acetonitril werden 500 mg (1.83 mmol) 2-{[(Benzyl)carbonyl]amino}ethyl-methansulfonat (Beispiel 11A) und 758 mg (5.48 mmol) Kaliumcarbonat hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei 50°C gerührt. Das Lösungsmittel wird dann eingedampft und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird durch präparative HPLC aufgereinigt.

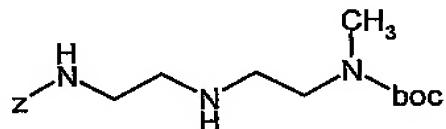
Ausbeute 131 mg (29% d. Th.)

LC-MS (Methode 3): $R_t = 0.78$ min.

MS (ESI): $m/z = 239$ ($M+H$)⁺.

Beispiel 13A

Benzyl-[2-{2-[(*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino]ethyl}amino]ethyl]carbamat



Die Herstellung erfolgt analog zum Beispiel 12A aus 300 mg (1.098 mmol) 2-5 {[*(Benzylxy)carbonyl]amino}ethyl-methansulfonat (Beispiel 11A), 386 mg (2.19 mmol) *tert*-Butyl-(2-aminoethyl)methylcarbamat und 455 mg (3.30 mmol) Kaliumcarbonat in 10 ml Acetonitril.*

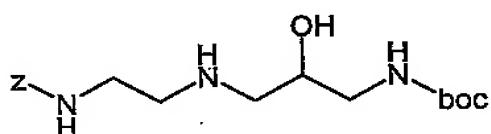
Ausbeute: 360 mg (82% d. Th.)

LC-MS (Methode 4): R_t = 1.51 min.

10 MS (ESI): m/z = 352 (M+H)⁺.

Beispiel 14A

Benzyl [2-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-hydroxypropyl}amino]ethyl]carbamat



Die Herstellung erfolgt analog zum Beispiel 12A aus 270 mg (0.98 mmol) 2-15 {[*(Benzylxy)carbonyl]amino}ethyl-methansulfonat (Beispiel 11A), 379 mg (1.98 mmol) *tert*-Butyl-(3-amino-2-hydroxypropyl)carbamat und 409 mg (2.96 mmol) Kaliumcarbonat in 10 ml Acetonitril.*

Ausbeute: 209 mg (45% d. Th.)

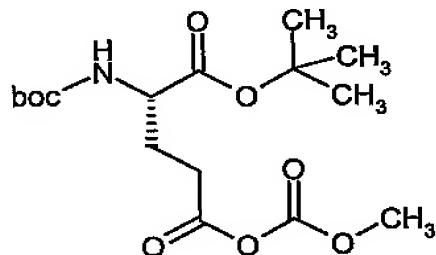
LC-MS (Methode 2): R_t = 1.44 min.

MS (ESI): m/z = 368 (M+H)⁺.

- 34 -

Beispiel 15A

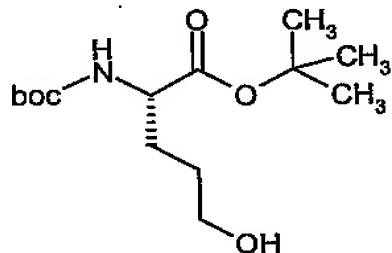
1-*tert*-Butyl 5-(methoxycarbonyl) *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-glutamat



Unter Argon werden 5 g (16.15 mmol) (4*S*)-5-*tert*-Butoxy-4-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-5-pentansäure und 2.45 ml (17.60 mmol) Triethylamin in 80 ml THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Dazu gibt man 1.68 g (17.77 mmol) Methylchloroformiat und lässt 3 Stunden bei 0°C nachröhren. Die Reaktionsmischung wird über Kieselgur filtriert. Das Filtrat wird direkt umgesetzt.

Beispiel 16A

tert-Butyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-5-hydroxy-*L*-norvalinat



10

Das Filtrat von (1-*tert*-Butyl-5-(methoxycarbonyl)-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-glutamat (Beispiel 15A) wird zu einer Suspension von 1.52 g (40.38 mmol) Natriumborhydrid in 4.5 ml Wasser bei 0°C tropfenweise hinzugegeben. Die Mischung erwärmt sich langsam auf RT und wird über Nacht gerührt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand wird zur Aufarbeitung mit Essigsäureethylester und Wasser versetzt. Die organische Phase wird mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

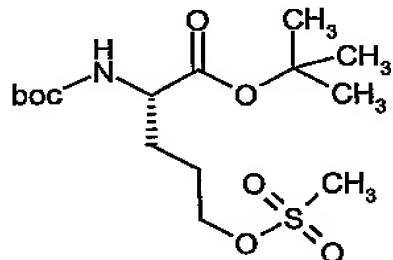
Ausbeute: 4.5 g (48% d.Th.)

LC-MS (Methode 2): R_t = 2.04 min.

20 MS (ESI): m/z = 290 (M+H)⁺

Beispiel 17A

tert-Butyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-5-[(methylsulfonyl)oxy]-*L*-norvalinat



Zu einer Mischung von 4.5 g (7.79 mmol) *tert*-Butyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-5-hydroxy-*L*-norvalinat (Beispiel 16A) und 2.17 ml (5.58 mmol) Triethylamin in 200 ml Dichlormethan werden 5 1.07 g (9.35 mmol) Methansulfonsäurechlorid hinzugegeben. Die Mischung wird bei RT über Nacht gerührt und dann mit Wasser versetzt. Die organische Phase wird nacheinander mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wird durch präparative HPLC aufgereinigt.

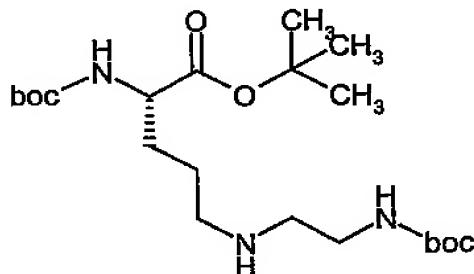
10 Ausbeute: quant.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 2.16$ min.

MS (ESI): $m/z = 368$ ($M+H$)⁺.

Beispiel 18A

tert-Butyl-*N*²-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*³-{2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl}-*L*-ornithinat



15

Die Herstellung erfolgt analog zum Beispiel 12A aus 2 g (5.443 mmol) *tert*-Butyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-5-[(methylsulfonyl)oxy]-*L*-norvalinat (Beispiel 17A), 1.78 g (10.89 mmol) *tert*-Butyl-(2-aminoethyl)carbamat und 2.26 g (16.33 mmol) Kaliumcarbonat in 100 ml Acetonitril. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

- 36 -

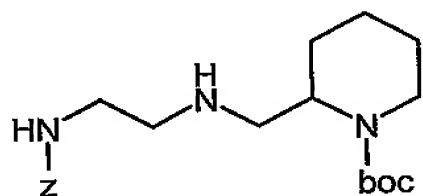
Ausbeute: 4.2 g (53% d. Th.)

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.61$ min.

MS (ESI): m/z = 432 ($M+H$)⁺.

Beispiel 19A

5 *tert*-Butyl 2-{[(2-{[(benzyloxy)carbonyl]amino}ethyl)amino]methyl}piperidin-1-carboxylat



Die Herstellung erfolgt analog zum Beispiel 12A aus 1 g (3.66 mmol) 2-{[(Benzyl)oxy]carbonyl}-aminoethyl-methansulfonat (Beispiel 11A), 1.56 g (7.31 mmol) *tert*-Butyl-2-(aminomethyl)-piperidin-1-carboxylat und 1.52 g (10.98 mmol) Kaliumcarbonat in 70 ml Acetonitril.

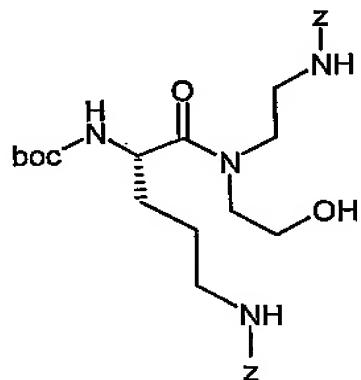
10 Ausbeute: 680 mg (45% d. Th.)

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.47$ min.

MS (ESI): m/z = 392 ($M+H$)⁺.

Beispiel 20A

15 Benzyl-{2-[{(2S)-5-{[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pentanoyl}(2-hydroxyethyl)amino]ethyl}carbamat



Zu einer Lösung von 169 mg (0.462 mmol) *N*⁵-[(Benzylxy)carbonyl]-*N*²-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-ornithin in 10 ml wasserfreiem DMF werden 193 mg (0.51 mmol) HATU und 0.247 ml (1.39 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin hinzugegeben. Nach 30 min Rühren bei RT werden 116 mg (0.46 mmol) Benzyl-{2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl} carbamat (Beispiel 12A) hinzugegeben.

5 Das Reaktionsgemisch wird 15 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird dann eingedampft und der Rückstand in Essigsäureethylester und Wasser versetzt. Die organische Phase wird nacheinander mit 1N Salzsäure und gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird durch präparative HPLC aufgereinigt.

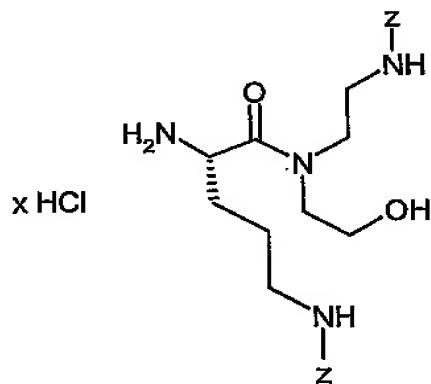
10 Ausbeute 188 mg (70% d. Th.)

LC-MS (Methode 1): $R_t = 2.17$ min.

MS (ESI): $m/z = 587$ ($M+H$)⁺.

Beispiel 21A

Benzyl-{(4*S*)-4-amino-5-[(2-[(benzylxy)carbonyl]amino)ethyl](2-hydroxyethyl)amino]-5-oxopentyl}carbamat Hydrochlorid



Zu einer Lösung von 176 mg (0.30 mmol) Benzyl-{2-[(2*S*)-5-[(benzylxy)carbonyl]amino]-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pentanoyl}(2-hydroxyethyl)amino]ethyl} carbamat (Beispiel 20A) in 1 ml Dioxan werden 2 ml einer 4 M Chlorwasserstoff-Dioxan-Lösung hinzugegeben. Nach 3 h bei

20 RT wird die Reaktionslösung im Vakuum eingeengt, mehrmals mit Dichlormethan coevaporiert und im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

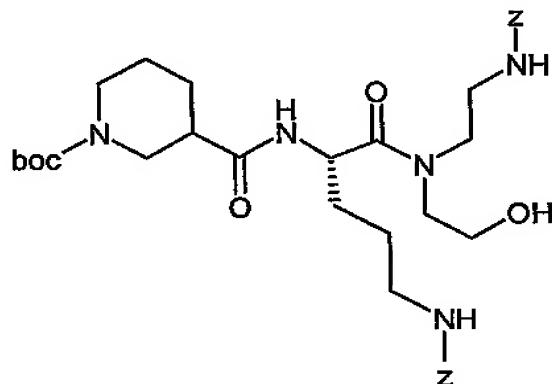
Ausbeute: 160 mg (85% d. Th.)

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.53$ min.

MS (ESI): m/z = 487 (M-HCl+H)⁺.

Beispiel 22A

tert-Butyl-3-[(3*S*)-3-(3-{[(benzyloxy)carbonyl]amino}propyl)-5-(2-hydroxyethyl)-4,9-dioxo-11-phenyl-10-oxa-2,5,8-triazaundecan-1-oyl]piperidin-1-carboxylat



5

Unter Argon werden 47 mg (0.206 mmol) 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)piperidin-3-carbonsäure, 130 mg (0.206 mmol) Benzyl-{(4*S*)-4-amino-5-[(2-{[(benzyloxy)carbonyl]amino}ethyl)(2-hydroxyethyl)amino]-5-oxopentyl}carbamat Hydrochlorid (Beispiel 21A) und 0.08 ml Triethylamin (0.56 mmol) in 10 ml Dimethylformamid gelöst. Bei 0°C (Eisbad) werden dann 67 mg (0.350 mmol) EDC und 10 9 mg (0.068 mmol) HOBT zugegeben. Es wird langsam auf RT erwärmt und für 12 h bei RT gerührt. Die Lösung wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand wird mit Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird nacheinander mit Wasser, 1 N Salzsäure und gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

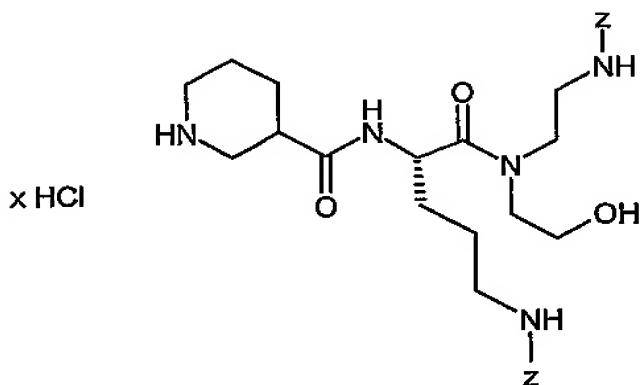
15 Ausbeute: quant.

LC-MS (Methode 1): R_t = 2.26 min.

MS (ESI): m/z = 698 (M+H)⁺.

Beispiel 23A

Benzyl-{(4*S*)-5-[(2-{[(benzyloxy)carbonyl]amino}ethyl)(2-hydroxyethyl)amino]-5-oxo-4-20 [(piperidin-3-ylcarbonyl)amino]pentyl}carbamat Hydrochlorid



Zu einer Lösung von 180 mg (0.196 mmol) *tert*-Butyl-3-[(3*S*)-3-(3-{{[(benzyloxy)carbonyl]amino}propyl}-5-(2-hydroxyethyl)-4,9-dioxo-11-phenyl-10-oxa-2,5,8-triazaundecan-1-oyl]-piperidin-1-carboxylat (Beispiel 22A) in 1 ml Dioxan werden 2 ml einer 4 M Chlorwasserstoff-

5 Dioxan-Lösung hinzugegeben. Nach 3 h bei RT wird die Reaktionslösung im Vakuum eingeengt, mehrmals mit Dichlormethan coevaporiert und im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird durch präparative HPLC aufgereinigt.

Ausbeute: 18 mg (14% d. Th.)

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.84$ min.

10 MS (ESI): $m/z = 598$ ($M-\text{HCl}+\text{H})^+$.

Analog zu der oben aufgeführten Vorschrift von Beispiel 1A werden die in der folgenden Tabelle aufgeführten Beispiele 24A bis 29A aus den entsprechenden Edukten hergestellt:

Bsp.-Nr.	Struktur	Hergestellt aus	Analytische Daten
24A		N^2 -[(Benzoyloxy)carbonyl]- N^2 -(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)- <i>L</i> -ornithin und <i>tert</i> -Butyl-(2-aminoethyl)-carbamat	LC-MS (Methode 3): $R_t = 2.33$ min. MS (ESI): $m/z = 509$ ($M+\text{H})^+$

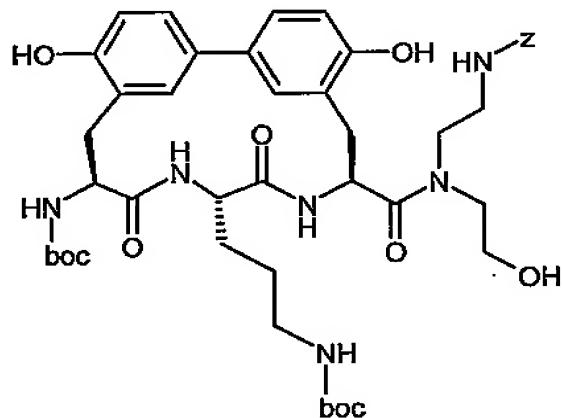
Bsp.-Nr.	Struktur	Hergestellt aus	Analytische Daten
25A		<i>N</i> -[(Benzylxy)-carbonyl]- <i>N</i> -methylglycin und 30A	LC-MS (Methode 2): R _t = 2.26 min. MS (ESI): m/z = 579 (M+H) ⁺
26A		<i>N</i> -[(Benzylxy)-carbonyl]- <i>N</i> -methylglycin und <i>tert</i> -Butyl-(2-aminoethyl)-carbamat	LC-MS (Methode 3): R _t = 2.03 min. MS (ESI): m/z = 366 (M+H) ⁺
27A		<i>N</i> -[(Benzylxy)-carbonyl]- <i>N</i> -{2-[{(tert-butoxycarbonyl)-amino]ethyl}glycin (CAS 34046-07-6) und <i>tert</i> -Butyl-(2-aminoethyl)-carbamat	LC-MS (Methode 3): R _t = 2.32 min. MS (ESI): m/z = 495 (M+H) ⁺
28A		(4 <i>R</i>)-1-[(Benzylxy)-carbonyl]-4-hydroxy- <i>L</i> -prolin und <i>tert</i> -Butyl-(2-aminoethyl)-carbamat	LC-MS (Methode 2): R _t = 1.84 min. MS (ESI): m/z = 408 (M+H) ⁺
29A		1-[(Benzylxy)-carbonyl]- <i>L</i> -prolin und <i>tert</i> -Butyl-(2-aminoethyl)-carbamat	LC-MS (Methode 3): R _t = 2.1 min. MS (ESI): m/z = 392 (M+H) ⁺

Analog zu der oben aufgeführten Vorschrift von Beispiel 2A werden die in der folgenden Tabelle aufgeführten Beispiele 30A bis 35A aus den entsprechenden Edukten hergestellt:

Bsp.-Nr.	Struktur	Hergestellt aus	Analytische Daten
30A		Beispiel 24A	MS (ESI): m/z = 375 (M+H) ⁺
31A		Beispiel 25A	MS (ESI): m/z = 445 (M+H) ⁺
32A		Beispiel 26A	MS (ESI): m/z = 232 (M+H) ⁺
33A		Beispiel 27A	MS (ESI): m/z = 361 (M+H) ⁺
34A		Beispiel 28A	MS (ESI): m/z = 274 (M+H) ⁺
35A		Beispiel 29A	MS (ESI): m/z = 258 (M+H) ⁺

Beispiel 36A

Benzyl-{2-[{[(8S,11S,14S)-14-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}(2-hydroxyethyl) amino]ethyl} carbamat



5

Zu einer Lösung von 30 mg (0.046 mmol) (8S,11S,14S)-14-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]-henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-carbonsäure (Beispiel 83A aus WO03/106480) in 2 ml wasserfreiem DMF werden 19.2 mg (0.050 mmol) HATU und 0.010 ml (0.137 mmol) N,N-Diisopropylethylamin hinzugegeben. Nach 30 min Rühren bei RT werden 12.7 mg (0.046 mmol) Benzyl-{2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl} carbamat (Beispiel 12A) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 15 h bei RT geführt. Das Lösungsmittel wird dann eingedampft und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird durch präparative HPLC aufgereinigt.

Ausbeute: 8 mg (20% d. Th.)

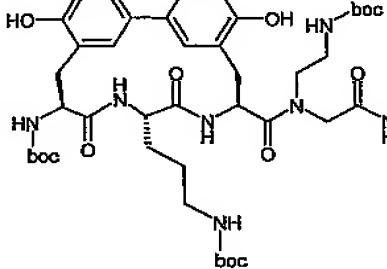
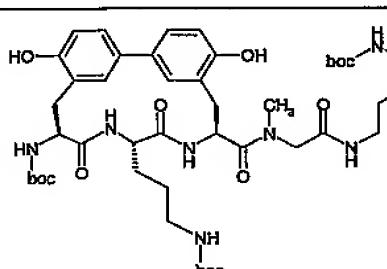
LC-MS (Methode 2): R_t = 2.29 min.

MS (ESI): m/z = 877 (M+H)⁺.

Analog zur Vorschrift des Beispiels 36A werden die in der folgenden Tabelle aufgeführten Beispiele 37A bis 45A hergestellt.

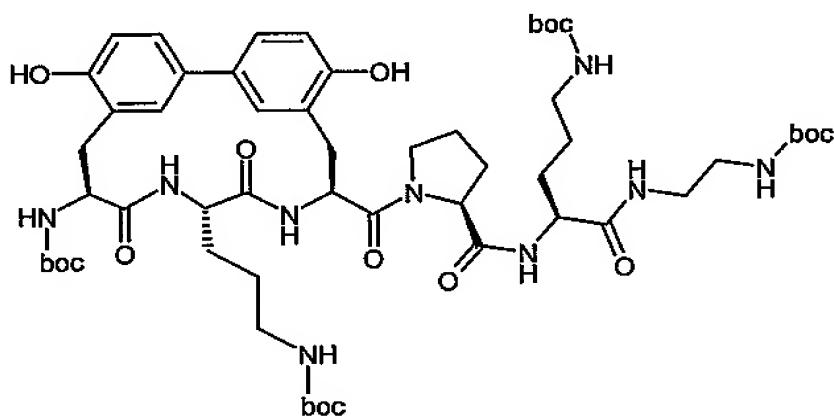
Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
37A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 13A		LC-MS (Methode 1): R _t = 2.46 min. MS (ESI): m/z = 990 (M+H) ⁺ .
38A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 14A		LC-MS (Methode 3): R _t = 2.48 min. MS (ESI): m/z = 1006 (M+H) ⁺ .
39A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 18A		LC-MS (Methode 1): R _t = 1.53 min. MS (ESI): m/z = 1070 (M+H) ⁺ .

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
40A	Beispiel 21A aus WO 03/106480 + 12A		LC-MS (Methode 1): R _t = 2.01 min. MS (ESI): m/z = 893 (M+H) ⁺ .
41A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 19A		LC-MS (Methode 3): R _t = 2.65 min. MS (ESI): m/z = 1030 (M+H) ⁺ .
42A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 23A		LC-MS (Methode 2): R _t = 2.53 min. MS (ESI): m/z = 1236 (M+H) ⁺ .
43A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 32A		LC-MS (Methode 3): R _t = 2.25 min. MS (ESI): m/z = 870 (M+H) ⁺ .

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
44A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 33A		LC-MS (Methode 2): R _t = 2.52 min. MS (ESI): m/z = 999 (M+H) ⁺ .
45A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 31A		LC-MS (Methode 1): R _t = 2.20 min. MS (ESI): m/z = 1084 (M+H) ⁺ .

Beispiel 46A

1-{[(8*S*,11*S*,14*S*)-14-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}-*L*-prolyl-*N*⁵-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-{2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl}-*L*-ornithinamid



Zu einer Lösung von 30 mg (0.046 mmol) (8S,11S,14S)-14-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]-henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-carbonsäure (Beispiel 83A aus WO03/106480) in 10 ml wasserfreiem DMF werden bei 0°C 26 mg (0.050 mmol) PyBOP und 0.020 ml (0.14 mmol)

5 *N,N*-Diisopropylethylamin hinzugegeben. Nach 30 min bei 0°C werden 23.7 mg (0.05 mmol) *L*-Prolyl-*N*^δ-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-{2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl}-*L*-ornithinamid (Beispiel 4A) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 15 h bei RT geführt. Das Lösungsmittel wird dann eingedampft und der Rückstand mit Wasser ausgeröhrt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird chromatographisch an Sephadex-LH20 (Laufmittel: Methanol /

10 Essigsäure (0.25%)) gereinigt.

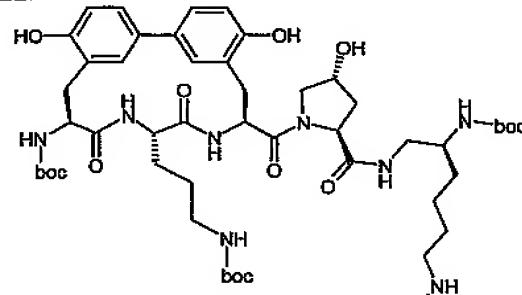
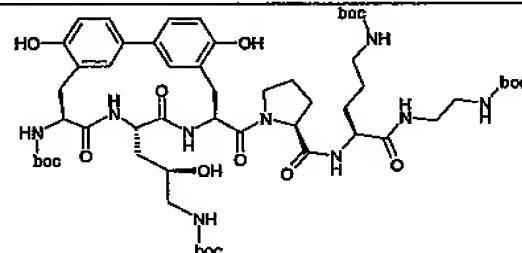
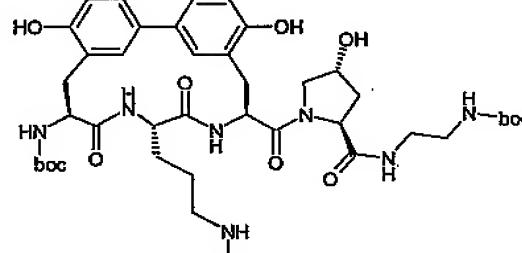
Ausbeute: 34 mg (66% d. Th.)

LC-MS (Methode 2): R_t = 2.49 min.

MS (ESI): m/z = 1110 (M+H)⁺.

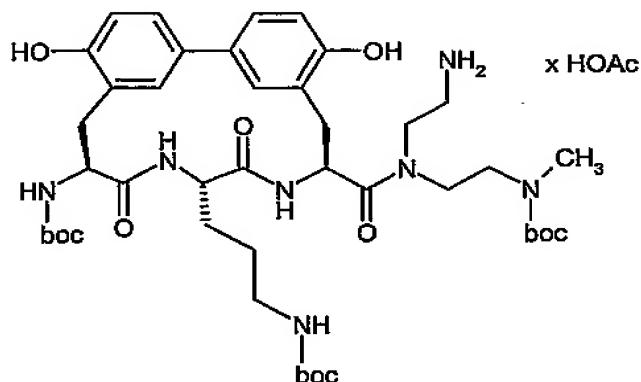
Analog zur Vorschrift des Beispiels 46A werden die in der folgenden Tabelle aufgeführten
15 Beispiele 47A bis 50A hergestellt.

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
47A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 35A		LC-MS (Methode 3): R _t = 2.26 min. MS (ESI): m/z = 896 (M+H) ⁺ .

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
48A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 10A		LC-MS (Methode 1): R _t = 2.29 min. MS (ESI): m/z = 1083 (M+H) ⁺ .
49A	Beispiel 21A aus WO 03/106480 + 4A		LC-MS (Methode 3): R _t = 2.21 min. MS (ESI): m/z = 1126 (M+H) ⁺ .
50A	Beispiel 83A aus WO 03/106480 + 34A		LC-MS (Methode 3): R _t = 2.15 min. MS (ESI): m/z = 912 (M+H) ⁺ .

Beispiel 51A

tert-Butyl-[2-((2-aminoethyl){[(8S,11S,14S)-14-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]henicos-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}amino)ethyl]methylcarbamat Hydroacetat



Es werden 11 mg (0.01 mmol) Benzyl [2-({[(8S,11S,14S)-14-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]heicos-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl} {2-[(tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino]-ethyl}amino]ethyl]carbamat (Beispiel 37A) in 4 ml Essigsäure/Wasser (4:1) gelöst. Dazu gibt man

5 5 mg Palladium auf Aktivkohle (10%ig) und hydriert anschließend 15 h bei Normaldruck. Das Reaktionsgemisch wird über vorgewaschenem Kieselgur filtriert und das Filtrat im Vakuum einrotiert. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: quant.

10 LC-MS (Methode 1): R_t = 1.80 min.

MS (ESI): m/z = 856 (M-HOAc+H)⁺.

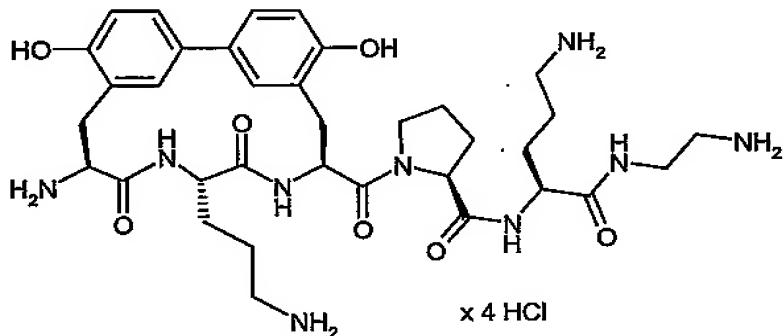
Analog zur Vorschrift des Beispiels 51A werden die in der folgenden Tabelle aufgeführten Beispiele 52A bis 56A hergestellt.

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
52A	38A		Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
53A	40A		LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.37$ min. MS (ESI): $m/z = 759$ ($M-HOAc+H$) ⁺ .
54A	36A		LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.69$ min. MS (ESI): $m/z = 742$ ($M-HOAc+H$) ⁺ .
55A	41A		LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.77$ min. MS (ESI): $m/z = 896$ ($M-HOAc+H$) ⁺ .
56A	42A		LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.14$ min. MS (ESI): $m/z = 968$ ($M-2HOAc+H$) ⁺ .

AusführungsbeispieleBeispiel 1

1-{[(8*S*,11*S*,14*S*)-14-Amino-11-(3-aminopropyl)-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]heptacosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}-*L*-prolyl-*N*-(2-aminoethyl)-*L*-ornithinamid Tetrahydrochlorid



Zu einer Lösung von 26.9 mg (0.024 mmol) der Verbindung aus Beispiel 46A in 1 ml Dioxan werden bei 0°C 0.363 ml einer 4N Chlorwasserstoff-Dioxan-Lösung hinzugegeben. Nach 3 h bei RT wird die Reaktionslösung im Vakuum eingeengt und mehrmals mit Dichlormethan 10 coevaporiert. Der zurückbleibende Feststoff wird im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Ausbeute: 20 mg (96% d. Th.)

LC-MS (Methode 5): R_t = 1.82 min.

MS (ESI): m/z = 710 (M-4HCl+H)⁺.

15 ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1.26 (m_c, 1H), 1.55-2.1 (m, 10H), 2.27 (m_c, 1H), 2.75 (m_c, 1H), 2.9-3.2 (m, 7H), 3.3-3.8 (m, 6H), 4.25 (m_c, 1H), 4.44 (m_c, 2H), 4.7-4.9 (m, 2H, unter D₂O), 6.85-7.0 (m, 3H), 7.27 (s, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.4 (d, 1H).

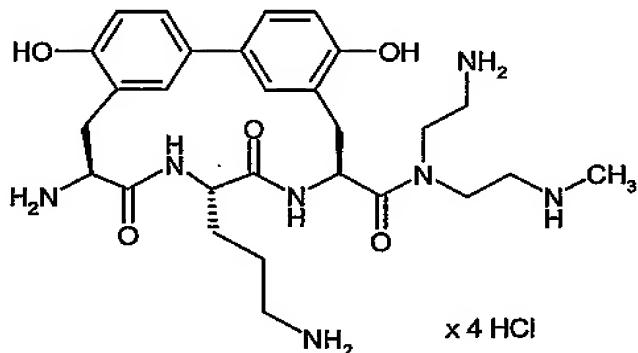
Beispiel 2

1-{{(8S,11S,14S)-14-Amino-11-(3-aminopropyl)-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}-L-prolyl-N-(2-aminoethyl)-L-ornithinamid Tetra(hydrotrifluoracetat)

5 Beispiel 1 als Tetrahydrochlorid-Salz wird durch präparative HPLC (Reprosil ODS-A, Laufmittel Acetonitril / 0.2% wässrige Trifluoressigsäure 5:95 → 95:5) in das Tetra(hydrotrifluoracetat) überführt.

Beispiel 3

10 (8S,11S,14S)-14-Amino-N-(2-aminoethyl)-11-(3-aminopropyl)-5,17-dihydroxy-N-[2-(methylamino)ethyl]-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-carboxamid Tetrahydrochlorid



15 Eine Mischung von 9 mg (0.011 mmol) *tert*-Butyl-[2-((2-aminoethyl){{(8S,11S,14S)-14-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-11-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]henicosa-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}amino)ethyl]-methylcarbamat (Beispiel 51A) und 1.5 ml einer 4 M Chlorwasserstoff-Dioxan-Lösung wird 20 min bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird eingeengt, mehrmals mit Dichlormethan coevaporiert und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: quant.

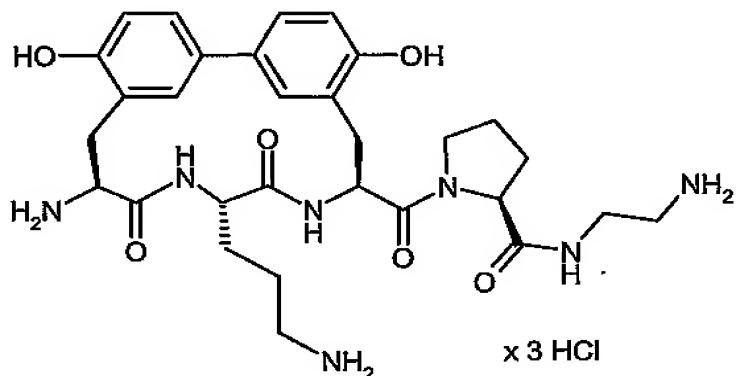
20 LC-MS (Methode 1): R_t = 0.27 min.

MS (ESI): m/z = 555 (M-4HCl+H)⁺.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1.60-1.90 (m, 5H), 2.73 (d, 3H), 2.86-3.11(m, 4H), 3.23-3.38 (m, 4H), 3.50-3.95 (m, 8H), 5.09 (m, 2H), 6.96 (d, 2H), 7.01 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.40 (d, 1H), 7.46 (d, 1H).

Beispiel 4

5 1-{[(8*S*,11*S*,14*S*)-14-Amino-11-(3-aminopropyl)-5,17-dihydroxy-10,13-dioxo-9,12-diazatri-cyclo[14.3.1.1^{2,6}]heptadeca-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-yl]carbonyl}-*N*-(2-aminoethyl)-*L*-prolinamid Trishydrochlorid



Zu einer Lösung von 26.9 mg (0.024 mmol) der Verbindung aus Beispiel 47A in 1 ml Dioxan
10 werden bei 0°C 0.363 ml einer 4N Chlorwasserstoff-Dioxan-Lösung hinzugegeben. Nach 3 h bei RT wird die Reaktionslösung im Vakuum eingeengt und mehrmals mit Dichlormethan coevaporiert. Der zurückbleibende Feststoff wird im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Ausbeute: 20 mg (96% d. Th.)

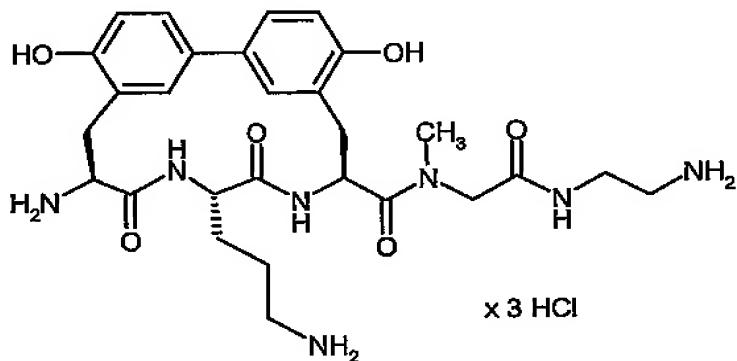
15 LC-MS (Methode 5): R_t = 1.82 min.

MS (ESI): m/z = 710 (M-3HCl+H)⁺.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 1.26 (m_c, 1H), 1.5-2.1 (m, 8H), 2.26 (m_c, 1H), 2.76 (m_c, 1H), 2.9-3.2 (m, 7H), 3.3-3.6 (m, 2H), 4.37 (m_c, 1H), 4.45 (m_c, 1H), 4.7-4.9 (m, 2H, unter D₂O), 6.85-7.0 (m, 3H), 7.27 (s, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.4 (d, 1H).

Beispiel 5

(8*S*,11*S*,14*S*)-14-Amino-N-{2-[(2-aminoethyl)amino]-2-oxoethyl}-11-(3-aminopropyl)-5,17-dihydroxy-*N*-methyl-10,13-dioxo-9,12-diazatricyclo[14.3.1.1^{2,6}]heptadeca-1(20),2(21),3,5,16,18-hexaen-8-carboxamid Trishydrochlorid



5

Zu einer Lösung von 19.9 mg (0.023 mmol) der Verbindung aus Beispiel 43A in 1 ml Dioxan werden bei 0°C 0.343 ml einer 4N Chlorwasserstoff-Dioxan-Lösung hinzugegeben. Nach 3 h bei RT wird die Reaktionslösung im Vakuum eingeengt und mehrmals mit Dichlormethan coevaporiert. Der zurückbleibende Feststoff wird im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

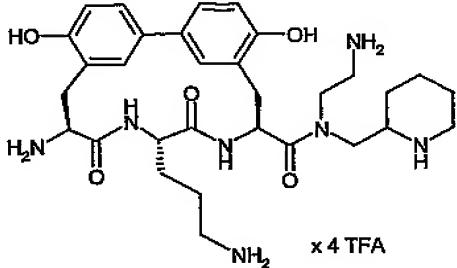
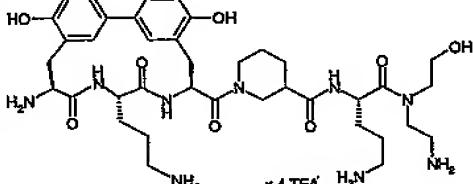
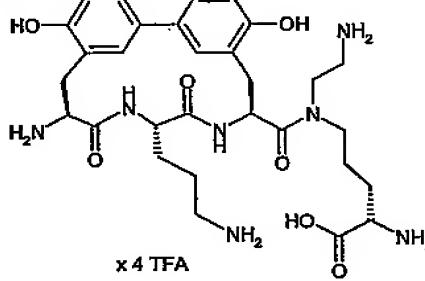
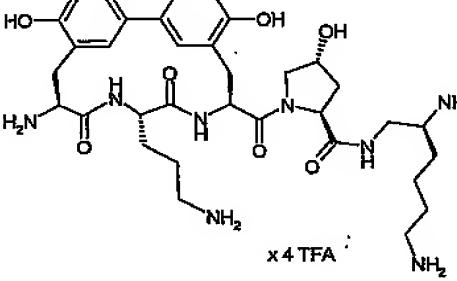
Ausbeute: 13.6 mg (88% d. Th.)

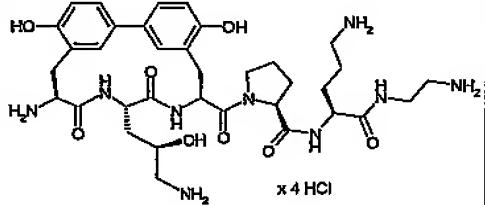
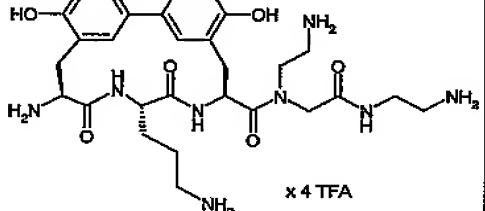
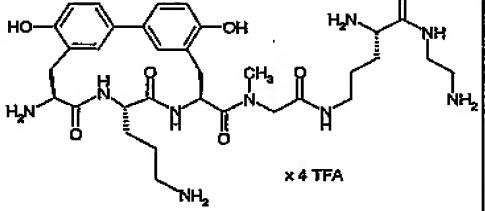
LC-MS (Methode 5): R_t = 1.9 min.

MS (ESI): m/z = 570 (M-3HCl+H)⁺.

Analog zur Vorschrift des Beispiels 1 werden die in der folgenden Tabelle aufgeführten Beispiele 15 5 bis 14 hergestellt, entsprechend der jeweiligen Isolierungsmethode als Hydrochlorid- oder Hydro(trifluoracetat)-Salz.

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
6	54A		<p>LC-MS (Methode 5): $R_t = 1.71$ min.</p> <p>MS (ESI): $m/z = 543$ ($M-3TFA+H$)⁺.</p> <p>¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.40-2.0$ (m, 5H), 2.80-3.90 (m, 12H), 5.18 (d, 1H), 6.93-6.96 (m, 2H), 7.01 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.34-7.45 (m, 2H).</p>
7	53A		<p>LC-MS (Methode 5): $R_t = 1.84$ min.</p> <p>MS (ESI): $m/z = 559$ ($M-3HCl+H$)⁺.</p>
8	52A		<p>LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.28$ min.</p> <p>MS (ESI): $m/z = 572$ ($M-4HCl+H$)⁺.</p> <p>¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.20-1.40$ (m, 1H), 1.60-2.0 (m, 5H), 2.70-4.30 (m, 21H), 6.98-7.10 (m, 3H), 7.30-7.57 (m, 3H).</p>

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
9	55A		LC-MS (Methode 6): $R_t = 1.04$ min. MS (ESI): $m/z = 596$ ($M-4TFA+H$) ⁺ . ¹ H-NMR (400 MHz, D ₂ O): $\delta = 1.30-2.0$ (m, 9H), 2.70-4.00 (m, 14H), 4.40 (m, 1H), 5.0 (dd _e , 1H), 6.80-6.71 (m, 3H), 7.00-7.20 (m, 3H).
10	56A		LC-MS (Methode 6): $R_t = 2.06$ min. MS (ESI): $m/z = 768$ ($M-4TFA+H$) ⁺ .
11	39A		LC-MS (Methode 5): $R_t = 1.85$ min. MS (ESI): $m/z = 614$ ($M-4TFA+H$) ⁺ .
12	48A		LC-MS (Methode 5): $R_t = 1.91$ min. MS (ESI): $m/z = 683$ ($M-4TFA+H$) ⁺ .

Beispiel-Nr.	Vorstufe Beispiel	Struktur	Analytische Daten
13	49A	 <p>x 4 HCl</p>	<p>LC-MS (Methode 5): $R_t = 1.89$ min.</p> <p>MS (ESI): $m/z = 726$ ($M-4HCl+H$)⁺.</p>
14	44A	 <p>x 4 TFA</p>	<p>MS (ESI): $m/z = 599$ ($M-4TFA+H$)⁺.</p> <p>¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.55-1.9$ (m, 4H), 2.76 (m_c, 1H), 2.9-3.35 (m, 10H), 3.4-3.6 (m, 2H), 3.86 (m_c, 1H), 4.11 (m_c, 1H), 4.34 (m_c, 1H), 4.43 (m_c, 1H), 4.7-4.9 (m, 1H, unter D₂O), 5.14 (m_c, 1H), 6.85-7.0 (m, 3H), 7.2-7.45 (m, 3H).</p>
15	45A	 <p>x 4 TFA</p>	<p>MS (ESI): $m/z = 684$ ($M-4TFA+H$)⁺.</p>

B. Bewertung der physiologischen Wirksamkeit**Verwendete Abkürzungen:**

AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BHI Medium	Brain heart infusion medium
CoA	Coenzym A
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ethyldiamintetraessigsäure
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
MHK	Minimale Hemmkonzentration
MTP	Mikrotiterplatte
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NH ₄ Cl	Ammoniumchlorid
NTP	Nukleotidtriphosphat
PBS	Phosphat Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PEG	Polyethylen glykol
PEP	Phosphoenolpyruvat
Tris	Tris[hydroxymethyl]aminomethan

Die *in vitro*-Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann in folgenden Assays gezeigt

5 werden:

In vitro Transkription-Translation mit *E. coli* Extrakten

Zur Herstellung eines S30-Extraktes werden logarithmisch wachsende *Escherichia coli* MRE 600 (M. Müller; University Freiburg) geerntet, gewaschen und wie beschrieben für den *in vitro* Transkriptions-Translations-Test eingesetzt (Müller, M. and Blobel, G. Proc Natl Acad Sci U S A 10 (1984) 81, pp.7421-7425).

Dem Reaktionsmix des *in vitro* Transkriptions-Translations-Tests werden zusätzlich 1 µl cAMP (11.25 mg/ml) je 50 µl Reaktionsmix zugegeben. Der Testansatz beträgt 105 µl, wobei 5 µl der zu

testenden Substanz in 5%igem DMSO vorgelegt werden. Als Transkriptionsmatrix werden 1 µg/100µl Ansatz des Plasmides pBESTLuc (Promega, Deutschland) verwendet. Nach Inkubation für 60 min bei 30°C werden 50 µl Luziferinlösung (20 mM Tricine, 2.67 mM MgSO₄, 0.1 mM EDTA, 33.3 mM DTT pH 7.8, 270 µM CoA, 470 µM Luziferin, 530 µM ATP) zugegeben und die 5 entstehende Biolumineszenz für 1 Minute in einem Luminometer gemessen. Als IC₅₀ wird die Konzentration eines Inhibitors angegeben, die zu einer 50%igen Inhibition der Translation von Firefly Luziferase führt.

In vitro Transkription-Translation mit *S. aureus* Extrakten

Konstruktion eines *S. aureus* Luziferase Reporterplasmids

10 Zur Konstruktion eines Reporterplasmids, welches in einem *in vitro* Transkriptions-Translations-Assay aus *S. aureus* verwendet werden kann, wird das Plasmid pBESTluc (Promega Corporation, USA) verwendet. Der in diesem Plasmid vor der Firefly Luziferase vorhandene *E. coli tac* Promoter wird gegen den *capA1* Promoter mit entsprechender Shine-Dalgarno Sequence aus *S. aureus* ausgetauscht. Dazu werden die Primer CAPFor 5'-CGGCC-
15 AAGCTTACTCGGATCCAGAGTTGCAAAATATAACAGGGATTATATAATGGAAAAC AAGAAAGGAAAATAGGAGGTTATATGGAAGACGCCA-3' und CAPRev 5'- GTCATCGTCGGGAAGACCTG-3' verwendet. Der Primer CAPFor enthält den *capA1* Promotor, die Ribosomenbindestelle und die 5'-Region des Luziferase Gens. Nach PCR unter Verwendung von pBESTluc als Template kann ein PCR-Produkt isoliert werden, welches das Firefly Luziferase 20 Gen mit dem fusionierten *capA1* Promotor enthält. Dieses wird nach einer Restriktion mit ClaI und HindIII in den ebenfalls mit ClaI und HindIII verdaulichen Vektor pBESTluc ligiert. Das entstandene Plasmid p_a kann in *E. coli* repliziert werden und als Template im *S. aureus* *in vitro* Transkriptions-Translations-Test verwendet werden.

Herstellung von S30 Extrakten aus *S. aureus*

25 Sechs Liter BHI Medium werden mit einer 250 ml Übernachtkultur eines *S. aureus* Stammes inkokuliert und bei 37°C bis zu einer OD_{600nm} von 2-4 wachsen gelassen. Die Zellen werden durch Zentrifugation geerntet und in 500 ml kaltem Puffer A (10 mM Tris-acetat, pH 8.0, 14 mM Magnesiumacetat, 1 mM DTT, 1 M KCl) gewaschen. Nach erneutem Abzentrifugieren werden die Zellen in 250 ml kaltem Puffer A mit 50 mM KCl gewaschen und die erhaltenen Pellets bei -20°C 30 für 60 min eingefroren. Die Pellets werden in 30 bis 60 min auf Eis aufgetaut und bis zu einem Gesamtvolumen von 99 ml in Puffer B (10 mM Tris-acetat, pH 8.0, 20 mM Magnesiumacetat, 1 mM DTT, 50 mM KCl) aufgenommen. Je 1.5 ml Lysostaphin (0.8 mg/ml) in Puffer B werden in 3 vorgekühlte Zentrifugenbecher vorgelegt und mit je 33 ml der Zellsuspension vermischt. Die

Proben werden für 45 bis 60 min bei 37°C unter gelegentlichem Schütteln inkubiert, bevor 150 µl einer 0.5 M DTT Lösung zugesetzt werden. Die lysierten Zellen werden bei 30.000 x g 30 min bei 4°C abzentrifugiert. Das Zellpellet wird nach Aufnahme in Puffer B unter den gleichen Bedingungen nochmals zentrifugiert und die gesammelten Überstände werden vereinigt. Die
5 Überstände werden nochmals unter gleichen Bedingungen zentrifugiert und zu den oberen 2/3 des Überstandes werden 0.25 Volumen Puffer C (670 mM Tris-acetat, pH 8.0, 20 mM Magnesiumacetat, 7 mM Na₃-Phosphoenolpyruvat, 7 mM DTT, 5.5 mM ATP, 70 µM Aminosäuren (complete von Promega), 75 µg Pyruvatkinaise (Sigma, Deutschland))/ml gegeben. Die Proben werden für 30 min bei 37°C inkubiert. Die Überstände werden über Nacht bei 4°C
10 gegen 2 l Dialysepuffer (10 mM Tris-acetat, pH 8.0, 14 mM Magnesiumacetat, 1 mM DTT, 60 mM Kaliumacetat) mit einem Pufferwechsel in einem Dialyseschlauch mit 3500 Da Ausschluss dialysiert. Das Dialysat wird auf eine Proteinkonzentration von etwa 10 mg/ml konzentriert, indem der Dialyseschlauch mit kaltem PEG 8000 Pulver (Sigma, Deutschland) bei 4°C bedeckt wird. Die S30 Extrakte können aliquotiert bei –70°C gelagert werden.

15 **Bestimmung der IC₅₀ im *S. aureus* in vitro Transcriptions-Translations-Assay**

Die Inhibition der Proteinbiosynthese der Verbindungen kann in einem *in vitro* Transkriptions-Translations-Assay gezeigt werden. Der Assay beruht auf der zellfreien Transkription und Translation von Firefly Luziferase unter Verwendung des Reporterplasmids p1a als Template und aus *S. aureus* gewonnenen zellfreien S30 Extrakten. Die Aktivität der entstandenen Luziferase
20 kann durch Lumineszenzmessung nachgewiesen werden.

Die Menge an einzusetzenden S30 Extrakt bzw. Plasmid p1a muss für jede Präparation erneut ausgetestet werden, um eine optimale Konzentration im Test zu gewährleisten. 3 µl der zu testenden Substanz gelöst in 5% DMSO werden in eine MTP vorgelegt. Anschließend werden 10 µl einer geeignet konzentrierten Plasmidlösung p1a zugegeben. Anschließend werden 46 µl eines
25 Gemisches aus 23 µl Premix (500 mM Kaliumacetat, 87.5 mM Tris-acetat, pH 8.0, 67.5 mM Ammoniumacetat, 5 mM DTT, 50 µg Folsäure/ml, 87.5 mg PEG 8000/ml, 5 mM ATP, 1.25 mM je NTP, 20 µM je Aminosäure, 50 mM PEP (Na₃-Salz), 2.5 mM cAMP, 250 µg je *E. coli* tRNA/ml) und 23 µl einer geeigneten Menge *S. aureus* S30 Extrakt zugegeben und vermischt. Nach Inkubation für 60 min bei 30°C werden 50 µl Luziferinlösung (20 mM Tricine, 2.67 mM MgSO₄,
30 0.1 mM EDTA, 33.3 mM DTT pH 7.8, 270 µM CoA, 470 µM Luziferin, 530 µM ATP) und die entstehende Biolumineszenz für 1 min in einem Luminometer gemessen. Als IC₅₀ wird die Konzentration eines Inhibitors angegeben, die zu einer 50%igen Inhibition der Translation von Firefly Luziferase führt.

Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK)

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) ist die minimale Konzentration eines Antibiotikums, mit der ein Testkeim in seinem Wachstum über 18-24 h inhibiert wird. Die Hemmstoffkonzentration kann dabei nach mikrobiologischen Standardverfahren bestimmt werden (siehe z.B.

5 The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-fifth edition. NCCLS document M7-A5 [ISBN 1-56238-394-9]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2000). Die MHK der erfindungsgemäßen Verbindungen wird im Flüssigdilutionstest im 96er-Mikrotiter-Platten-Maßstab bestimmt. Die Bakterienkeime werden in

10 einem Minimalmedium (18.5 mM Na₂HPO₄, 5.7 mM KH₂PO₄, 9.3 mM NH₄Cl, 2.8 mM MgSO₄, 17.1 mM NaCl, 0.033 µg/ml Thiaminhydrochlorid, 1.2 µg/ml Nicotinsäure, 0.003 µg/ml Biotin, 1% Glucose, 25 µg/ml von jeder proteinogenen Aminosäure mit Ausnahme von Phenylalanin; [H.-P. Kroll; unveröffentlicht]) unter Zusatz von 0.4% BH-Bouillon kultiviert (Testmedium). Im Fall von *Enterococcus faecium* L4001 wird dem Testmedium hitzeaktiviertes fötales Kälberserum

15 (FCS; GibcoBRL, Deutschland) in einer Endkonzentration von 10% zugesetzt. Übernachtkulturen der Testkeime werden auf eine OD₅₇₈ von 0.001 (im Falle der Enterokokken auf 0.01) in frisches Testmedium verdünnt und 1:1 mit Verdünnungen der Testsubstanzen (Verdünnungsstufen 1:2) in Testmedium inkubiert (200 µl Endvolumen). Die Kulturen werden bei 37°C für 18-24 Stunden inkubiert; Enterokokken in Gegenwart von 5% CO₂.

20 Die jeweils niedrigste Substanzkonzentration, bei der kein sichtbares Bakterienwachstum mehr auftritt, wird als MHK definiert.

Alternative Bestimmungsmethode der Minimalen Hemmkonzentration (MHK)

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) ist die minimale Konzentration eines Antibiotikums, mit der ein Testkeim in seinem Wachstum über 18-24 h inhibiert wird. Die Hemmstoffkonzentration kann dabei nach mikrobiologischen Standardverfahren mit modifiziertem Medium im Rahmen eines Agardilutionstests bestimmt werden (siehe z.B. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-fifth edition. NCCLS document M7-A5 [ISBN 1-56238-394-9]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2000). Die Bakterienkeime werden auf 1.5%igen Agarplatten kultiviert, die 20% defibriniertes Pferdeblut enthalten. Die Testkeime, die über Nacht auf Columbia-Blutagarplatten (Becton-Dickinson) inkubiert werden, werden in PBS verdünnt, auf eine Keimzahl von ca. 5x10⁵ Keime/ml eingestellt und auf Testplatten getropft (1-3 µl). Die Testsubstanzen enthalten unterschiedliche

Verdünnungen der Testsubstanzen (Verdünnungsstufen 1:2). Die Kulturen werden bei 37°C für 18-24 Stunden in Gegenwart von 5% CO₂ inkubiert.

Die jeweils niedrigste Substanzkonzentration, bei der kein sichtbares Bakterienwachstum mehr auftritt, wird als MHK definiert und in µg/ml angegeben.

5 **Tabelle A** (mit Vergleichsbeispiel Biphenomycin B)

Bsp.-Nr.	MHK <i>S. aureus</i> 133	MHK <i>S. aureus</i> T17	MHK <i>E. faecium</i> L4001	IC ₅₀ <i>S. aureus</i> 133 Translation
1	1.0	4.0	2.0	0.7
3	2.0	4.0	8.0	0.8
6	2.0	4.0	4.0	0.7
8	1.0	4.0	16.0	0.25
9	4.0	2.0	32	0.33
Biphenomycin B	<0.03	>32	0.5	1.5

Konzentrationsangaben: MHK in µg/ml; IC₅₀ in µM.

Systemische Infektion mit *S. aureus* 133

Die Eignung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung von bakteriellen Infektionen kann in verschiedenen Tiermodellen gezeigt werden. Dazu werden die Tiere im allgemeinen mit einem geeigneten virulenten Keim infiziert und anschließend mit der zu testenden Verbindung, die in einer an das jeweilige Therapiemodell angepassten Formulierung vorliegt, behandelt. Speziell kann die Eignung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung von bakteriellen Infektionen in einem Sepsismodell an Mäusen nach Infektion mit *S. aureus* demonstriert werden.

Dazu werden *S. aureus* 133 Zellen über Nacht in BH-Bouillon (Oxoid, Deutschland) angezüchtet. 15 Die Übernachtkultur wurde 1:100 in frische BH-Bouillon verdünnt und für 3 Stunden hochgedreht. Die in der logarithmischen Wachstumsphase befindlichen Bakterien werden abzentrifugiert und zweimal mit gepufferter, physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Danach wird am Photometer (Dr. Lange LP 2W) eine Zellsuspension in Kochsalzlösung mit einer Extinktion von 50 Einheiten eingestellt. Nach einem Verdünnungsschritt (1:15) wird diese Suspension 1:1 mit einer 10%-igen 20 Mucinsuspension gemischt. Von dieser Infektionslösung wird 0.2 ml/20 g Maus i.p. appliziert. Dies entspricht einer Zellzahl von etwa 1-2 x 10⁶ Keimen/Maus. Die i.v.-Therapie erfolgt 30

Minuten nach der Infektion. Für den Infektionsversuch werden weibliche CFW1-Mäuse verwendet. Das Überleben der Tiere wird über 6 Tage protokolliert. Das Tiermodell ist so eingestellt, daß unbehandelte Tiere innerhalb von 24 h nach der Infektion versterben. Für die Beispielverbindung 2 konnte in diesem Modell eine therapeutische Wirkung von ED₁₀₀ = 5 1.25 mg/kg demonstriert werden.

Bestimmung der Spontanresistenzfrequenzen gegen *S. aureus*

Die Spontanresistenzraten der erfindungsgemäßen Verbindungen werden wie folgt bestimmt: die Bakterienkeime werden in 30 ml eines Minimalmediums (18.5 mM Na₂HPO₄, 5.7 mM KH₂PO₄, 9.3 mM NH₄Cl, 2.8 mM MgSO₄, 17.1 mM NaCl, 0.033 µg/ml Thiaminhydrochlorid, 1.2 µg/ml Nicotinsäure, 0.003 µg/ml Biotin, 1% Glucose, 25 µg/ml von jeder proteinogenen Aminosäure unter Zusatz von 0,4% BH Bouillon) bei 37°C über Nacht kultiviert, 10 min bei 6.000xg abzentrifugiert und in 2 ml phosphat-gepufferter physiologischer NaCl-Lösung resuspendiert (ca. 10 2x10⁹ Keime/ml). 100 µl dieser Zellsuspension bzw. 1:10 und 1:100 Verdünnungen werden auf vorgetrockneten Agarplatten (1.5% Agar, 20% defibriniertes Pferdeblut bzw. 1.5% Agar, 20% 15 Rinderserum in 1/10 Müller-Hinton-Medium verdünnt mit PBS), welche die zu testende erfindungsgemäße Verbindung in einer Konzentration entsprechend 5xMHK bzw. 10xMHK enthalten, ausplattiert und 48 h bei 37°C bebrütet. Die entstehenden Kolonien (cfu) werden ausgezählt.

Isolierung der Biphenomycin-resistenten *S. aureus* Stämme RN4220Bi^R und T17

20 Der *S. aureus* Stamm RN4220Bi^R wird *in vitro* isoliert. Dazu werden jeweils 100 µl einer *S. aureus* RN4220 Zellsuspension (ca. 1.2x10⁸ cfu/ml) auf einer antibiotikafreien Agarplatte (18.5 mM Na₂HPO₄, 5.7 mM KH₂PO₄, 9.3 mM NH₄Cl, 2.8 mM MgSO₄, 17.1 mM NaCl, 0.033 µg/ml Thiaminhydrochlorid, 1.2 µg/ml Nicotinsäure, 0.003 µg/ml Biotin, 1% Glucose, 25 µg/ml von jeder proteinogenen Aminosäure unter Zusatz von 0.4% BH-Bouillon und 1% Agarose) und einer Agarplatte, die 2 µg/ml Biphenomycin B (10xMHK) enthält, ausplattiert und über Nacht bei 37°C bebrütet. Während auf der antibiotikafreien Platte ca. 1x10⁷ Zellen wachsen, wachsen auf der antibiotikahaltigen Platte ca. 100 Kolonien, entsprechend einer Resistenzfrequenz von 1x10⁻⁵. Einige der auf der antibiotikahaltigen Platte gewachsenen Kolonien werden auf MHK gegen Biphenomycin B getestet. Eine Kolonie mit einer MHK > 50 µM wird zur weiteren Verwendung 25 ausgewählt und der Stamm mit RN4220Bi^R bezeichnet.
30

Der *S. aureus* Stamm T17 wird *in vivo* isoliert. CFW1-Mäuse werden mit 4x10⁷ *S. aureus* 133-Zellen pro Maus intraperitoneal infiziert. 0.5 Std. nach der Infektion werden die Tiere mit 50 mg/kg Biphenomycin B intravenös behandelt. Den überlebenden Tieren werden am Tag 3 nach

der Infektion die Nieren entnommen. Nach dem Homogenisieren der Organe werden die Homogenate, wie bei RN4220Bi^R beschrieben, auf antibiotikafreien und antibiotikahaltigen Agarplatten, ausplattiert und über Nacht bei 37°C bebrütet. Etwa die Hälfte der aus der Niere isolierten Kolonien zeigen ein Wachstum auf den antibiotikahaltigen Platten (2.2×10^6 Kolonien), 5 was die Anreicherung von Biphenomycin B resistenten *S. aureus* Zellen in der Niere der behandelten Tiere belegt. Ca. 20 dieser Kolonien werden auf MHK gegen Biphenomycin B getestet und eine Kolonie mit einer MHK > 50 µM wird zur Weiterkultivierung ausgewählt und der Stamm mit T17 bezeichnet.

C. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

Intravenös applizierbare Lösung:**5 Zusammensetzung:**

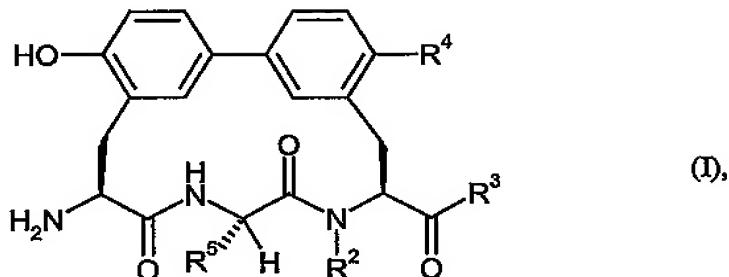
1 mg der Verbindung von Beispiel 1, 15 g Polyethylenglykol 400 und 250 g Wasser für Injektionszwecke.

Herstellung:

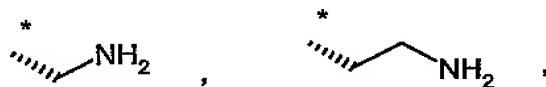
10 Die erfindungsgemäße Verbindung wird zusammen mit Polyethylenglykol 400 in dem Wasser unter Rühren gelöst. Die Lösung wird sterilfiltriert (Porendurchmesser 0.22 µm) und unter aseptischen Bedingungen in hitzesterilisierte Infusionsflaschen abgefüllt. Diese werden mit Infusionsstopfen und Bördelkappen verschlossen.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel



in welcher

5 R^5 gleich eine Gruppe der Formel

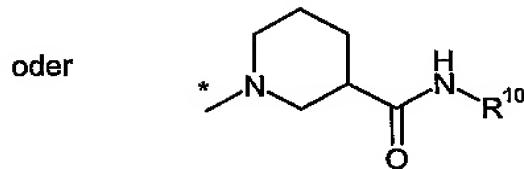
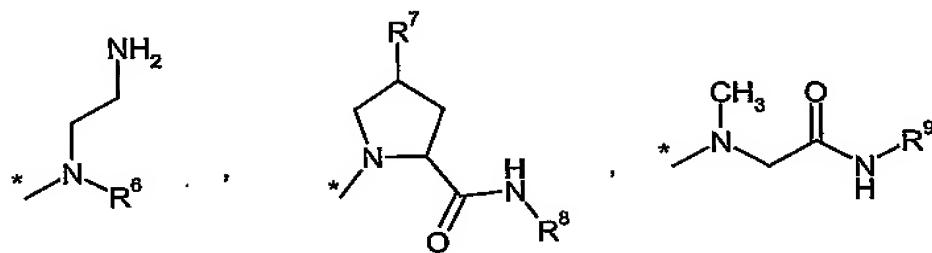
ist,

wobei

* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

10 R^1 gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist, R^2 gleich Wasserstoff, Methyl oder Ethyl ist, R^3 gleich eine Gruppe der Formel

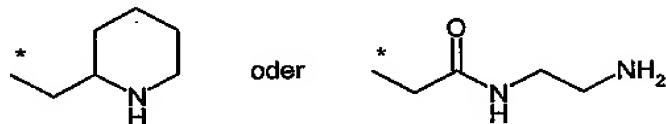
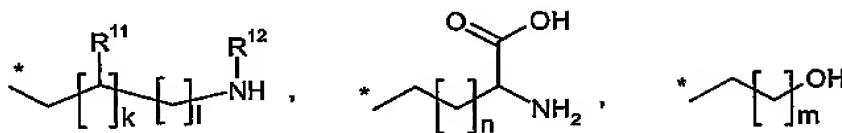
- 66 -



ist,

wobei

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

5 R⁶ gleich eine Gruppe der Formel

ist,

worin

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

10 R¹¹ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,R¹² gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

k eine Zahl 0 oder 1 ist,

1 eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 ist,

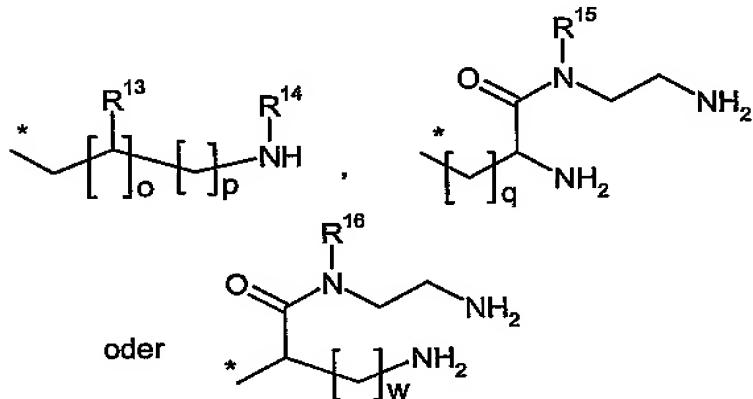
- 67 -

und

m und n unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2 oder 3 sind,

R⁷ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

R⁸, R⁹ und R¹⁰ unabhängig voneinander eine Gruppe der Formel



5

sind,

worin

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R¹³ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

10

R¹⁴ gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

R¹⁵ und R¹⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff, Aminoethyl oder Hydroxyethyl sind,

o eine Zahl 0 oder 1 ist,

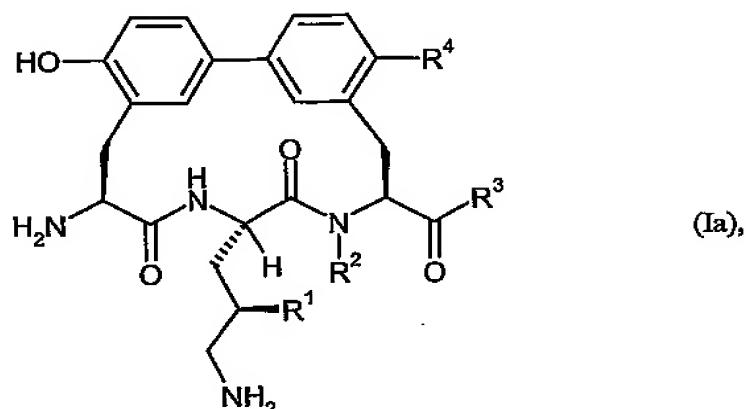
15

p, q und w unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 sind,

R⁴ gleich Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, Amino oder Methyl ist,

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie der Formel



entspricht, in welcher

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

R² gleich Wasserstoff, Methyl oder Ethyl ist,

5 R³ wie oben definiert ist,

R⁴ gleich Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, Amino oder Methyl ist,

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass

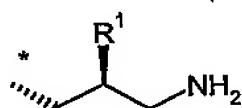
R² gleich Wasserstoff ist.

10 4. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass

R⁴ gleich Wasserstoff, Hydroxy, Chlor oder Methyl ist.

5. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass

R⁵ gleich eine Gruppe der Formel



15 ist,

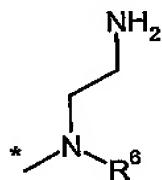
wobei

* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

R^1 gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

R^2 gleich Wasserstoff ist,

R^3 gleich eine Gruppe der Formel

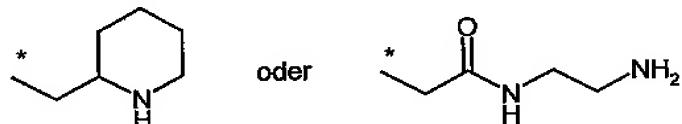
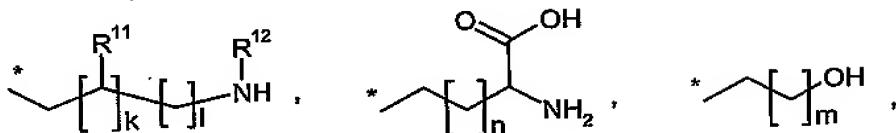


ist,

wobei

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R^6 gleich eine Gruppe der Formel



10

ist,

worin

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R^{11} gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

R^{12} gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

15

k eine Zahl 0 oder 1 ist,

1 eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 ist,

und

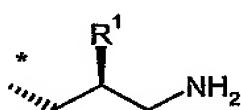
m und n unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2 oder 3 sind,

R⁴ gleich Hydroxy ist,

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

5 6. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass

R⁵ gleich eine Gruppe der Formel



ist,

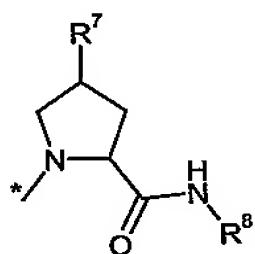
wobei

10 * die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

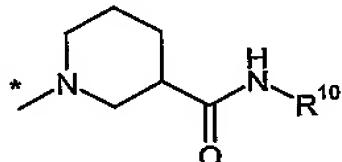
R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

R² gleich Wasserstoff ist,

R³ gleich eine Gruppe der Formel



oder



15 ist,

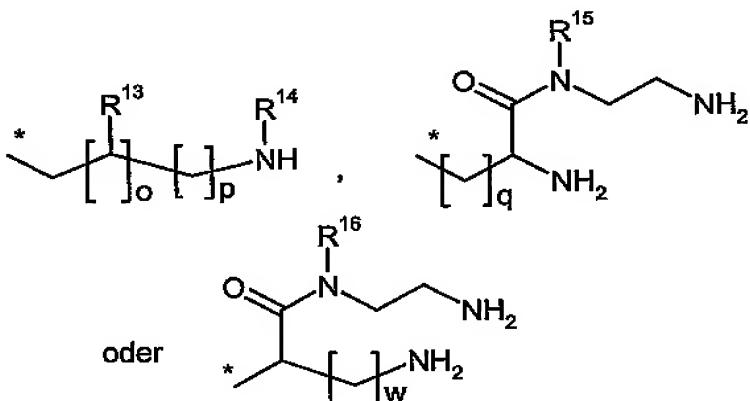
wobei

* die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R⁷ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

- 71 -

R^8 und R^{10} unabhängig voneinander eine Gruppe der Formel



sind,

worin

5 * die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R^{13} gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

R^{14} gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander Wasserstoff, Aminoethyl oder Hydroxyethyl sind,

10 o eine Zahl 0 oder 1 ist,

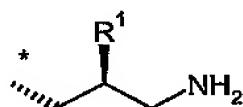
p, q und w unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 sind,

R^4 gleich Hydroxy ist,

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

15 7. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass

R^5 gleich eine Gruppe der Formel



ist,

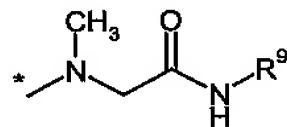
wobei

* die Anknüpfstelle an das Kohlenstoffatom ist,

R¹ gleich Wasserstoff oder Hydroxy ist,

5 R² gleich Wasserstoff ist,

R³ gleich eine Gruppe der Formel

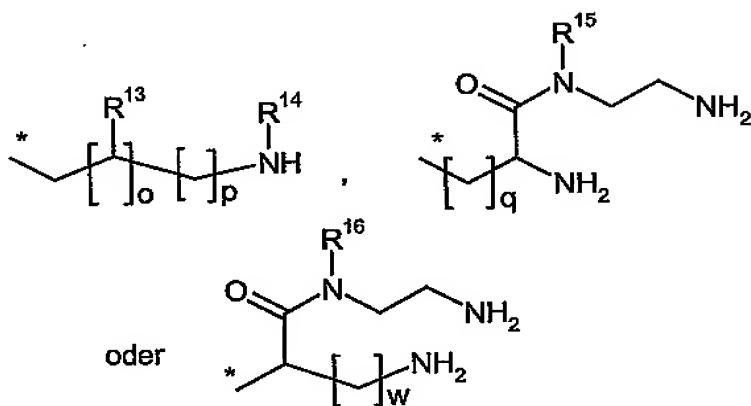


ist,

wobei

10 * die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R⁹ eine Gruppe der Formel



ist,

worin

15 * die Anknüpfstelle an das Stickstoffatom ist,

R¹³ gleich Wasserstoff, Amino oder Hydroxy ist,

R^{14} gleich Wasserstoff oder Methyl ist,

R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander Wasserstoff, Aminoethyl oder Hydroxyethyl sind,

o eine Zahl 0 oder 1 ist,

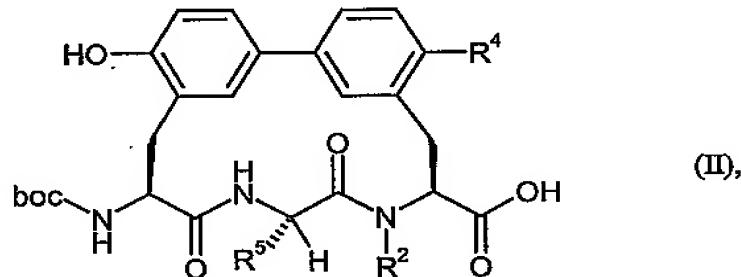
5 p, q und w unabhängig voneinander eine Zahl 1, 2, 3 oder 4 sind,

R^4 gleich Hydroxy ist,

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

8. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I) nach Anspruch 1 oder eines
10 ihrer Salze, Solvate oder der Solvate ihrer Salze, dadurch gekennzeichnet, dass

[A] eine Verbindung der Formel



worin R^2 , R^4 und R^5 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und boc gleich *tert*-Butoxycarbonyl ist,

15 in einem zweistufigen Verfahren zunächst in Gegenwart von einem oder mehreren Dehydratisierungsreagenzien mit einer Verbindung der Formel

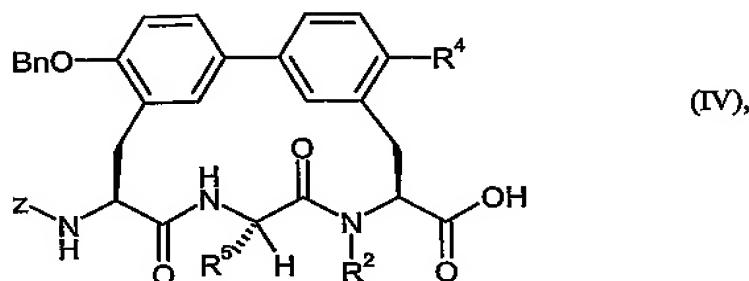
HR^3 (III),

worin R^3 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat,

und anschließend mit einer Säure und/oder durch Hydrogenolyse umgesetzt wird,

20 oder

[B] eine Verbindung der Formel



worin R^2 , R^4 und R^5 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben und Z gleich Benzyloxycarbonyl ist,

5 in einem zweistufigen Verfahren zunächst in Gegenwart von einem oder mehreren Dehydratisierungsreagenzien mit einer Verbindung der Formel



worin R^3 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat,

und anschließend mit einer Säure oder durch Hydrogenolyse umgesetzt wird.

- 9. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I) nach Anspruch 1 oder eines
10 ihrer Solvate, dadurch gekennzeichnet, dass ein Salz der Verbindung oder ein Solvat eines
Salzes der Verbindung durch Chromatographie unter Zusatz einer Base in die Verbindung
überführt wird.
- 10. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von
Krankheiten.
- 15 11. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Herstellung eines
Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.
- 12. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Herstellung eines
Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen Erkrankungen.
- 20 13. Arzneimittel enthaltend mindestens eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 in
Kombination mit mindestens einem inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten
Hilfsstoff.
- 14. Arzneimittel nach Anspruch 13 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen
Infektionen.

15. Verfahren zur Bekämpfung von bakteriellen Infektionen in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer antibakteriell wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 oder eines Arzneimittels nach Anspruch 13 oder 14.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/002564

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	INV. C07D245/04	A61P31/04	C07K5/06	C07K5/08	C07K5/10
-------------------------------------	-----------------	-----------	----------	----------	----------

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 102 26 921 A1 (BAYER AG) 24 December 2003 (2003-12-24) & EP 1 515 983 A (BAYER HEALTHCARE AG) 23 March 2005 (2005-03-23)	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

16 May 2006

Date of mailing of the International search report

29/05/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 91 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schleifenbaum, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2006/002564**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 15 relates to a method for treatment of the human or animal body the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/EP2006/002564	
---	--

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
DE 10226921	A1 24-12-2003	AU	2003245928 A1		31-12-2003
		BR	0311948 A		29-03-2005
		CA	2489454 A1		14-12-2004
		CN	1675236 A		28-09-2005
		WO	03106480 A1		24-12-2003
		EP	1515983 A1		23-03-2005
		JP	2006511446 T		06-04-2006
		MX	PA04012438 A		19-04-2005
EP 1515983	A 23-03-2005	AU	2003245928 A1		31-12-2003
		BR	0311948 A		29-03-2005
		CA	2489454 A1		14-12-2004
		CN	1675236 A		28-09-2005
		DE	10226921 A1		24-12-2003
		WO	03106480 A1		24-12-2003
		JP	2006511446 T		06-04-2006
		MX	PA04012438 A		19-04-2005

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/002564

A. KLASSEIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES	INV. C07D245/04	A61P31/04	C07K5/06	C07K5/08	C07K5/10
--	-----------------	-----------	----------	----------	----------

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
C07D C07K

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGEGEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 102 26 921 A1 (BAYER AG) 24. Dezember 2003 (2003-12-24) & EP 1 515 983 A (BAYER HEALTHCARE AG) 23. März 2005 (2005-03-23) -----	1-15

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonderes bedeutsam anzusehen ist
- *'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *'V' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *'W' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *'Z' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 16. Mai 2006	Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts 29/05/2006
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Schleifenbaum, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHTInternationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/002564**Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl der Anspruch 15 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine ehrwürdige internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2006/002564

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
DE 10226921	A1	24-12-2003	AU	2003245928 A1		31-12-2003
			BR	0311948 A		29-03-2005
			CA	2489454 A1		14-12-2004
			CN	1675236 A		28-09-2005
			WO	03106480 A1		24-12-2003
			EP	1515983 A1		23-03-2005
			JP	2006511446 T		06-04-2006
			MX	PA04012438 A		19-04-2005
EP 1515983	A	23-03-2005	AU	2003245928 A1		31-12-2003
			BR	0311948 A		29-03-2005
			CA	2489454 A1		14-12-2004
			CN	1675236 A		28-09-2005
			DE	10226921 A1		24-12-2003
			WO	03106480 A1		24-12-2003
			JP	2006511446 T		06-04-2006
			MX	PA04012438 A		19-04-2005